

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Analytická chemie



Mgr. Štěpán Jirkal

Aplikace solvatačního modelu k popisu retence vybraných látek
v kapalinové a plynové chromatografii

Application of solvation model to retention description of selected compounds
in liquid and gas chromatography

Dizertační práce

Vedoucí dizertační práce: doc. RNDr. Radomír Čabala, Dr.

Praha, 2016

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce, ani její podstatná část, nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 31. 07. 2016

Podpis

Tato dizertační práce vznikla na základě výsledků získaných v letech 2000 až 2016 během mého Ph.D. studia na Katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 2030, 128 43, Praha 2.

Tato dizertační práce vznikla za finanční podpory Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy (projekt MSM 113100002) a projektů SVV Univerzity Karlovy v Praze.

Školitel: doc. RNDr. Radomír Čabala, Dr.
Katedra analytické chemie
Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze

Konzultant: prof. Ing. Jiří Ševčík, DrSc.
Katedra analytické chemie
Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze

Předmětová hesla: Analytická chemie, separační metody

Klíčová slova: Lineární vztahy solvatační energie, popis retence, solvatační model, výpočet deskriptorů, kapalinová chromatografie, plynová chromatografie

Subject words: Analytical chemistry, separation methods

Key words: Linear solvation energy relationships, retention description, solvation model, calculation of descriptors, liquid chromatography, gas chromatography

Poděkování:

Na tomto místě bych rád poděkoval mému školiteli doc. RNDr. Radomíru Čabalovi, Dr. za vedení a odbornou pomoc při vypracovávání doktorské práce. Dále bych chtěl poděkovat mému konzultantovi prof. Ing. Jiřímu Ševčíkovi, DrSc. za jeho dlouhodobý a trpělivý přístup během studia a odborné zasvěcení do tematiky práce. Velký dík také patří celé katedře analytické chemie za porozumění a přátelské prostředí.

ABSTRAKT (CZ)

Solvatační model (LSER) byl použit ke studiu retenčního chování látek v kapalinové a plynové chromatografii. V první kapitole byl studován popis retence 21 látek solvatačním modelem na reverzní stacionární fázi, v širokém rozmezí složení mobilní fáze methanol-voda a acetonitril-voda. Retence aromatických sloučenin byla obecně lépe popsána solvatačním modelem, než alifatických sloučenin.

Byl sledován vliv jednotlivých analytů, použitých pro formulaci LSER modelu, na celkovou schopnost popisu retence modelem. Odlišných výsledků v odhadu retence bylo dosaženo použitím regresního souboru látek obsahujícím pouze sloučeniny aromatické, nebo naopak jen alifatické. Rozdílné výsledky také poskytoval solvatační model formulovaný pouze z kyslíkatých derivátů, nebo naopak dusíkatých derivátů organických látek.

Druhá kapitola práce, tematicky zaměřená na plynovou chromatografii, se zabývala popisem retence 152 izomerů C5-C8 alkenů LSER modelem. Solvatační deskriptor L alkenů byl získán odhadovými metodami Havelec-Ševčík (HS) a Platts-Butina (PB), deskriptor E byl přímo vypočten podle jeho definice.

Na základě použitých metod k odhadu deskriptorů byly sestaveny dva modely k popisu retence alkenů, model HS a model PB. Byla zjištěna vyšší chyba odhadu retence pro *cis* izomery alkenů, počítané modelem HS. Po úpravě modelu HS odstraněním příspěvku pro *cis* interakce, bylo dosaženo významného zlepšení v popisu retence.

Oba modely byly použity k odhadu retence 59 alkenů C5-C7. Model HS s deskriptory $L_{\text{HS no cis}}$ a E_{calc} poskytl přesnější popis retence, ve srovnání s modelem PB. Dále byla popisována retence skupiny 93 oktenů, nejlepších výsledků bylo dosaženo modelem PB pomocí deskriptorů L_{PB} a E_{calc} . Na závěr byla studována retence celé skupiny C5-C8 alkenů, kde se výrazněji projevovала heteroskedasticita reziduí u dvou-deskriptorových modelů. V případě jedno-deskriptorových modelů HS a PB nebyla heteroskedasticita jednoznačně prokázána. Nejlepší popis retence 152 alkenů s jediným deskriptorem L poskytl model HS.

ABSTRACT (EN)

The solvation model based on LSER was applied to study the retention behaviour of analytes in liquid and gas chromatography. In a first chapter, a retention description of 21 solutes was investigated by using the solvation model in a wide range of mobile phase composition methanol-water and acetonitril-water. Generally, the retention of aromatic compounds was better described by the solvation model, compared to aliphatic compounds.

Effect of the particular analytes used to formulate the LSER model on ability of retention description was studied. Different results of a retention estimation was achieved by using the regression set of compounds including aromatic solutes only or by contrast aliphatic solutes only. The solvation model developed on the basis of oxygen derivatives provided distinct results in comparison to model formulated with nitrogen derivatives only.

The second chapter of this work, focused on gas chromatography, dealt with a description of retention of 152 isomers C5-C8 alkenes by the LSER model. The solvation descriptor L was obtained by using two estimation methods Havelec-Ševčík (HS) and Platts-Butina (PB), the descriptor E was calculated according to its definition.

Two models for retention description of alkenes were constructed, the HS model and the PB model, derived from the methods for estimation of descriptors. Higher error of the estimated retention calculated by the HS model was found for cis isomers of alkenes. After a modification of the HS model by omitting the contribution for cis interaction was achieved a significant improvement in the retention description.

Both the models were used to estimate the retention of 59 alkenes C5-C7. The HS model with descriptors $L_{\text{HS no cis}}$ and E_{calc} provided the more accurate retention description compared to the PB model. Next, a retention description of 93 octenes was carried out and the best results were achieved by the PB model using the descriptors L_{PB} and E_{calc} . Finally, a retention of all 152 alkenes C5-C7 was studied, where noticeable heteroscedasticity of residuals occurred at the two-descriptor models. In case of the one-descriptor models HS and PB, heteroscedasticity was not entirely proved. The best retention description of 152 alkenes with only single descriptor L provided the HS model.

OBSAH

	ÚVOD.....	15
1	TEORETICKÁ ČÁST.....	16
1.1	Retenční modely v chromatografii.....	16
1.1.1	Obecný mechanismus retence a solvatace.....	18
1.1.2	LSST model (Linear solvent strength theory).....	20
1.1.3	Model parametrů rozpustnosti (Solubility parameter model).....	23
1.1.4	Model podle parametrů polarity (Polarity parameter model).....	27
1.1.5	Modely založené na QSRR (Quantitative structure-retention relationships)	28
1.1.6	Kamlet-Taftův solvatochromní model.....	31
1.1.7	Abrahamův solvatační model (LSER).....	36
1.1.7.1	Historie a vývoj modelu.....	37
1.1.7.2	Deskriptory solutu.....	40
1.1.7.3	Regresní koeficienty solvatační rovnice.....	45
1.1.7.4	Omezení a nedostatky solvatačního modelu.....	53
1.1.7.5	Možnosti a využití solvatačního modelu.....	54
1.1.8	Globální LSER model.....	56
1.1.9	Teoretický LSER model (TLSER)	58
1.1.10	Hydrophobic Subtraction Model (HSM)	60
1.2	Vícenásobný lineární regresní model	62
1.2.1	Vícenásobná lineární regrese.....	63
1.2.2	Podmínky platnosti regresního modelu.....	66
1.2.3	Výstavba regresního modelu.....	70
1.2.4	Hodnocení kvality regresního modelu.....	72
1.3	Přehled publikovaných výsledků: predikce retence skupiny 21 látek LSER modelem v mobilních fázích methanol-voda a acetonitril-voda	75
2	POPIS RETENCE SKUPINY 21 LÁTEK LSER MODELEM V MOBILNÍCH FÁZÍCH METHANOL-VODA A ACETONITRIL-VODA.....	78

2.1	Porovnání retence 21 měřených látek a jejich průběh v jednotlivých mobilních fázích.....	78
2.2	Porovnání predikce retence jednotlivých látek LSER modelem.....	82
2.3	Porovnání modelů LSER a LSST v popisu retence 21 látek.....	84
2.4	Kombinace modelů LSER a LSST k popisu retence.....	89
2.5	Vliv volby látek na popis retence LSER modelem.....	93
2.6	Shrnutí výsledků kapitoly 2.....	97
3	POPIS RETENCE C5-C8 ALKENŮ LSER MODELEM: POUŽITÍ DVOU METOD VÝPOČTU DESKRIPTORU L.....	99
3.1	Úvod kapitoly 3.....	99
3.2	Metodologie.....	100
3.3	Postup práce	103
3.4	Výsledky a diskuze.....	105
3.4.1	Popis retence C5-C7 alkenů.....	105
3.4.2	Popis retence C8 alkenů.....	113
3.4.3	Popis retence skupiny C5-C8 alkenů.....	122
3.4.4	Shrnutí výsledků kapitoly 3.....	132
4	ZÁVĚR.....	134
5	Přílohy P.....	136
6	Použitá literatura.....	166
7	Přílohy.....	176

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

A	celková acidita vodíkové vazby solutu (LSER)
A	acidita stacionární fáze
α	regresní koeficient bazicity (LSER)
$A_{(m)}$	analyt v mobilní fázi
$A_{(s)}$	analyt ve stacionární fázi
Absolv (ACD/Labs)	program (PC) s databází a výpočtem LSER deskriptorů
ADME Absolv 2.0	program (PC) s databází a výpočtem LSER deskriptorů
ADME calc	metoda výpočtu deskriptorů; model odhadu retence
A-H	donor vodíkového protonu pro vznik vodíkové vazby
A-H...B	komplex sloučenin A-H, B spojených vodíkovou vazbou
AIC	Akaikeho informační kritérium
AICc	korigované Akaikeho informační kritérium
ANOVA	analýza rozptylu
ANN	umělá neuronová síť
A_{WAS}	plocha povrchu molekuly solutu přístupná molekulám vody
B	akceptor vodíkového protonu pro vznik vodíkové vazby
B	celková bazicita vodíkové vazby solutu (LSER)
B	parametr bazicity stacionární fáze
B_0	celková bazicita vodíkové vazby solutu (proměnlivá bazicita)(LSER)
b	regresní koeficient acidity (LSER)
b_1, b_2, b_m	regresní koeficienty
b_0	konstantní člen
m	počet nezávisle proměnných veličin,
i	počet hodnot závisle proměnné y
c	konstantní člen (LSER)
C	parametr lontových interakcí a výměny iontů
$C_{A(s)}$	koncentrace analytu v stacionární fázi
$C_{A(m)}$	koncentrace analytu v mobilní fázi
C5-C8	organické sloučeniny s 5 až 8 uhlíky v molekule
cal	kalorie
c_0, c_1, c_2, c_3	konstanty rovnice
cv	křížová validace (cross-validation)
CODESSA	program (PC) pro odhad a predikci vlastností látek
C_p	Mallowova hodnota
D	délka eukleidovské vzdálenosti (Abrahamův D -parametr) (LSER)
D^+	deskriptor disociovaného kationtu (LSER)
d^+	regresní koeficient (LSER)
D^-	deskriptor disociovaného aniontu (LSER)
d^-	regresní koeficient (LSER)

D_B	koeficient přiřazený dané referenční bázi (B)
df	stupeň volnosti
$d\delta$	korekční člen parametru π^*
DRAGON	program (PC) pro odhad a predikci vlastností látek
E	Přebytková molární refrakce (LSER)
e	regresní koeficient (LSER)
\hat{e}_i	reziduum
ΔE_0	konstantní člen změny energie nezávislý na jednotlivých interakcích
$\Delta E_{HB,A}$	změna energie interakcí vodíkové vazby (solut je kyselina (donor))
$\Delta E_{HB,B}$	změna energie interakcí vodíkové vazby (solut je báze (akceptor))
ΔE_{CAV}	změna energie provázející kavitační proces
ΔE_{DIPOL}	změna energie interakcí dipól-dipól a dipól-indukovaný dipól
ΔE_{SOLV}	celková změna energie při solvataci
ΔE_i^v	molární výparná energie látky i
ΔE_i^c	kohezivní energie (molární) kapaliny i
ESP	rozšířený model parametrů rozpustnosti
$E_T(30)$	solvatochromní parametr polaritý rozpouštědla
F	Fisherova F -statistika
$F_{1-\alpha(p-1,n-p)}$	kritická hodnota F -statistiky
FG	počet funkčních skupin
$f(x)$	funkce proměnné x
g	konstantní člen
GC	plynová chromatografie
ΔH^0	změna entalpie
H	hydrofobicita
HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie
HS	metoda Havelec-Ševčík
HSM	hydrophobic subtraction model
IC	počet interakčních příspěvků
J	Joule
J^+	iontový deskriptor kationtu (LSER)
\bar{J}^+	regresní koeficient (LSER)
J^-	iontový deskriptor aniontu (LSER)
\bar{J}^-	regresní koeficient (LSER)
K	rovnovážná konstanta reakce
k	součet počtu kladných a záporných rozdílů reziduí
k	retenční faktor
k_1, k_2, k_3, k_4	konstanty (koeficienty) rovnice
k_A	retenční faktor látky (A)
K_D	rozdělovací (distribuční) konstanta

k_{EB}	retenční faktor standardu (ethylbenzen)
k_w	retenční faktor analytu v mobilní fázi tvořené čistou vodou
$(\log k)_0$	parametr vlastnosti stacionární fáze (parametr polarity)
L	logaritmus rozdělovacího koeficientu plyn-hexadekan ($\log L^{16}$) (LSER)
l	regresní koeficient (LSER)
L_B	koeficient přiřazený dané referenční bázi (B)
L^{16}	rozdělovací koeficient plyn-hexadekan
L_{HS}	deskriptor L vypočtený metodou Havelec-Ševčík
$L_{HS \text{ no cis}}$	upravený deskriptor L vypočtený metodou Havelec-Ševčík
L_{PB}	deskriptor L vypočtený metodou Platts-Butina
LC	kapalinová chromatografie
LFER	Linear free energy relationships
$\log K_A^H$	parametr acidity vodíkové vazby měřeného solutu
$\log K_B^H$	parametr bazicity vodíkové vazby měřeného solutu
$(\log k)_0$	konstanta nezávislá na vlastnostech solutu (LSER)
LSER	Linear solvation energy relationships
LSST	linear solvent strength theory
m	počet proměnných v rovnici
m	regresní koeficient (LSER)
MEP	Střední kvadratická chyba predikce
MLR	vícenásobná lineární regrese
MOSCED	Modified Separation of Cohesive Energy Density Model
$MR_{(x)}$	molární refrakci solutu (x)
$MR_{(N)}$	molární refrakce hypotetického alkanu (N)
MSS	regresní součet čtverců (model sum of squares)
Mt	Scottova hodnota
n	počet měření, počet látek
$n_{A(s)}$	látkové množství analytu (A) ve stacionární fázi
$n_{A(m)}$	látkové množství analytu (A) v mobilní fázi
n_D^{20}	index lomu (20°C)
n_s	látkové množství stacionární fáze
n_m	látkové množství mobilní fáze
P	vypočtená hodnota rozdělovacího koeficientu oktanol-voda
P	studovaná vlastnost solutu
p	počet regresních parametrů
p	parametr polarity solutu,
P_m^N	parametr polarity mobilní fáze,
P_s^N	parametr polarity stacionární fáze
P_{ow}	rozdělovací koeficient oktanol-voda
$p-\pi^*$	elektronový přechod mezi orbitaly p a π^*

Pa	pascal
PB	metoda Platts-Butina
PCA	analýza hlavních komponent
PDMS	polydimethylsiloxan
PRESS	součet čtverců predikovaných reziduí
Q^2	predikovaný koeficient determinace
q_-	elektrostatická bazicita solutu (TLSER)
q_+	elektrostatická acidita solutu (TLSER)
QSAR	Quantitative structure–activity relationship
QSPR	Quantitative structure–property relationship
QSRR	Quantitative structure–retention relationship
R	univerzální plynová konstanta
R	korelační koeficient
r	regresní koeficient (LSER)
R^2	koeficient determinace
R^2_{adj}	korigovaný koeficient determinace
R_{Sp}	Spearmanovův korelační koeficient
RI	retenční index
RSS	reziduální součet čtverců (residual sum of squares)
S	deskriptor dipolarity/polarizovatelnosti (LSER)
S	parametr vlastností solutu a organického rozpouštědla (LSST rovnice)
s	citlivost barviva na posun frekvence absorpčního maxima ν
S^*	sterická rezistence stacionární fáze vůči solutu
s	regresní koeficient dipolarity/polarizovatelnosti (LSER)
ΔS^0	změna entropie
S_1, S_2	regresní koeficienty modifikované LSST rovnice
SC	počet strukturních příspěvků
SD	směrodatná odchylka regresní závislosti
sd	směrodatná odchylka
$SE(y)$	směrodatná odchylka závisle proměnné y
$SE(b)$	směrodatná odchylka odhadu regresního koeficientu
SP	studovaná vlastnost solutu (solute property)
SPACE	Solvatochromic Parameters for Activity Coefficient Estimation
T	termodynamická teplota
$t_{1-\alpha/2} (n-p)$	kritická hodnota t
t_M	mrtvý čas kolony
$t_{R,A}$	retenční čas látky (A)
TLSER	teoretický LSER model
TSS	celkový součet čtverců (total sum of squares)
U	hodnota statistiky

u	délka Eukleidovského vektoru (LSER)
(UV-VIS)	oblast viditelné a ultrafialové části spektra světla
V	McGowanův charakteristický objem (LSER)
V_2	McGowanův charakteristický objem (LSER)
v	regresní koeficient (LSER)
V_i	molární objem látky i.
v_i	molární objem látky (i)
V_M	mrtvý objem kolony
V_m	objem mobilní fáze
V_{mv}	Hopfingerův molekulární objem (TLSER)
$V_{R,A}$	retenční objem látky (A),
V_s	objem stacionární fáze
V_x	McGowanův charakteristický objem (LSER)
VIF	variance inflation factor
x	nezávisle proměnná veličina
XYZ	vlastnost solutu ovlivněná solventem
$(XYZ)_0$	konstantní člen vlastnosti solutu nezávislý na vlivu solventu
y	závisle proměnná veličina
\bar{y}	průměrná hodnota závisle proměnné
\hat{y}_i	vypočtená hodnota závisle proměnné y_i

ŘECKÁ ABECEDA

α	selektivita separace
α	hladina významnosti
α	solvatochromní parametr (deskriptor) acidity
α_2^H	deskriptor acidity vodíkové vazby solutu
$\Sigma \alpha_2^H$	deskriptor celkové (součtové) acidity vodíkové vazby solutu
β	solvatochromní parametr (deskriptor) bazicity
β_2^H	deskriptor bazicity vodíkové vazby solutu
$\Sigma \beta_2^H$	deskriptor celkové (součtové) bazicity vodíkové vazby solutu
$\gamma_{i,f}^H$	aktivitní koeficient solutu (i) ve fázi (f)
$\gamma_{i,m}$	aktivitní koeficient látky i v mobilní fázi
$\gamma_{i,s}$	aktivitní koeficient látky i v stacionární fázi.
δ_A	parametr rozpustnosti složky A
δ_B	parametr rozpustnosti složky B
δ_f	parametr rozpustnosti fáze (f),
δ_H^2	Hildebrandův parametr rozpustnosti
δ_i	parametr rozpustnosti látky (i),
δ_m	parametr rozpustnosti mobilní fáze,

δ_{Min}	přebytečný elektronový náboj atomu solutu
δ_{s}	parametr rozpustnosti stacionární fáze
δ^2_{total}	celkový parametr rozpustnosti
ε_{A}	kovalentní acidita solutu (TLSER)
ε_{B}	kovalentní bazicita solutu (TLSER)
ε_{i}	chyba modelu,
λ_{s}	parametr disperzních sil stacionární fáze
λ_{m}	parametr disperzních sil mobilní fáze
μ	dipólový moment
ν	frekvence absorpčního maxima
$\nu_{\text{cyklohexan}}$	frekvence absorpčního maxima v přítomnosti cyklohexanu
ν_{DMSO}	frekvence absorpčního maxima v přítomnosti dimethylsulfoxidu
π^*	solvatochromní parametr dipolarity/polarizovatelnosti
π_1	deskriptor polarizovatelnosti solutu (TLSER)
π_2^{H}	solvatační parametr (deskriptor) dipolarity/polarizovatelnosti
$\pi\text{-}\pi^*$	elektronový přechod mezi orbitaly π^* a π^*
ϕ	objemový zlomek
Φ	poměr objemů stacionární a mobilní fáze

ÚVOD

Kapalinová a plynová chromatografie patří mezi nejvýznamnější separační metody používané v analytické chemii. Dělení látek těmito metodami je složitý proces, založený na různorodých interakcích mezi analyty a separačním prostředím, tvořeným stacionární a mobilní fází. Celkový popis tohoto děje zatím není zcela objasněn.

Vzhledem k rozsahu použití separačních metod je studium mechanismu retence v chromatografii významným směrem přispívajícím k rozvoji analytické chemie. Vhodná volba experimentálních podmínek je základem pro provedení kvalitní analýzy. Znalost mechanismu dělení látek v chromatografii může hrát klíčovou roli ve volbě metody a optimalizaci podmínek separace.

Solvatační model odvozený od teorie linear solvation energy relationships (LSER) popisuje separaci látek v chromatografii z kvalitativního a kvantitativního hlediska. V současné době patří mezi nejpoužívanější modely aplikované na retenci analytů. Model popisuje jednotlivé interakce separačního děje a rovněž zohledňuje vlastnosti studované látky a separačního prostředí, tvořeného stacionární a mobilní fází.

Předložená práce se zabývá popisem retence látek v kapalinové a plynové chromatografii použitím zmíněného solvatačního modelu. V teoretické části je stručně popsán obecný proces solvatace látek, který tvoří základní děj v rozdělovací chromatografii. Dále jsou uvedeny některé významné retenční modely, používané k popisu chromatografické separace analytů. Součástí teoretické části je i chemometrická metodika zpracování dat lineární regrese, pro nalezení vztahu mezi fyzikálně-chemickými vlastnostmi látek a jejich retencí. Výsledky experimentální práce jsou tematicky znázorněny ve dvou hlavních kapitolách. První část se zabývá použitím solvatačního modelu v kapalinové chromatografii s různým složením mobilní fáze. Druhá část je věnována popisu retence alkenů solvatačním modelem v plynové chromatografii.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Retenční modely v chromatografii

Retence látek v rozdělovací chromatografii je komplexní proces, zahrnující vzájemné interakce solutu, stacionární fáze a mobilní fáze [1,2]. Pro popis separačního děje v RPLC a GC bylo vytvořeno mnoho modelů, které se odlišují přístupem a komplikovaností.

Modely založené na fyzikálně-chemických základech bývají robustní a použitelné pro širokou oblast sloučenin. Nicméně jejich odhady nebývají tak přesné, ať již z důvodu horší dostupnosti parametrů, nebo komplexnosti celkového popisu děje. Na druhé straně empirické modely, které zahrnují experimentální parametry látek k popisu retence, jsou často aplikovatelné pouze na omezený rozsah analytů, ale jejich schopnost predikce v konkrétní oblasti použití bývá vyšší.

V této kapitole jsou popsány modely běžně používané v rozdělovací chromatografii typu kapalina-kapalina a plyn-kapalina. Dále jsou uvedeny retenční modely související s přístupem LSER, který je hlavním tématem této práce.

Linear Free Energy Relationships (LFER): lineární vztahy volných energií

LFER vyjadřuje vztah mezi fyzikálně-chemickými vlastnostmi látek (makroskopického rozměru) a jejich mikroskopickými strukturními charakteristikami odvozenými od molekulárních vlastností. LFER zpravidla bývá semi-empirickým vztahem, založeným na fyzikálně-chemických vlastnostech kombinovaných s empirickými parametry látek získanými z experimentálních dat. Pro tento typ závislosti se také užívá pojem extra-termodynamický vztah: jedná se termodynamický koncept rozšířený o další experimentální parametry látek, určený pro detailní popis specifického fyzikálně-chemického děje [3].

Nejznámější podobou LFER je Hammettova rovnice v organické chemii, dále se LFER hojně používá k popisu fyzikálně-chemických a biologických procesů. LFER může být vztah s jedním parametrem, často je ale formulován jako součet několika členů

znázorňujících specifické interakce. Z matematického hlediska v rovnicích musí platit princip aditivity jednotlivých příspěvků energie, které jsou na sobě nezávislé. LFER je zpravidla popsán jednoduchým nebo vícenásobným lineárním regresním modelem a řídí se odpovídajícími statistickými předpoklady.

S pojmem LFER se částečně překrývají další formy vztahů, jako jsou QSAR (Quantitative structure-activity relationship) nebo QSPR (Quantitative structure-property relationship). K popisu retence jako funkce strukturních vlastností látek je používáno formulace QSRR (Quantitative structure-retention relationship), která je popsána v kapitole 1.1.5.

Linear Solvation Energy Relationships (LSER)

Modely založené na LSER jsou součástí širší skupiny obecných vztahů LFER. Pojem LSER byl zaveden autory Kamlet-Taft pro popis jednotlivých interakcí mezi rozpouštědlem a solutem [4]. LSER je užší forma LFER závislosti použitá k popisu solvatačního děje [1], provázeného interakcemi mezi solutem a solventem. LSER lze obecně vyjádřit následující rovnicí:

$$\Delta E_{\text{SOLV}} = \Delta E_0 + \Delta E_{\text{CAV}} + \Delta E_{\text{DIPOL}} + \Delta E_{\text{HB,A}} + \Delta E_{\text{HB,B}} \quad (1.1.1.1)$$

ΔE_{SOLV} popisuje celkovou změnu energie při solvataci,

ΔE_{CAV} znázorňuje změny energie provázející kavitační proces,

ΔE_{DIPOL} značí energii polárních interakcí molekul spojenou s tvorbou vazeb dipól-dipól a dipól- indukovaný dipól,

$\Delta E_{\text{HB,A}}$ popisuje energii interakcí vodíkové vazby, kde solut vystupuje jako kyselina (donor),

$\Delta E_{\text{HB,B}}$ popisuje energii interakcí vodíkové vazby, kde solut vystupuje jako báze (akceptor),

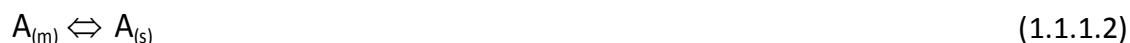
ΔE_0 konstantní člen nezávislý na jednotlivých interakcích (nepopisuje specifický děj).

Jednotlivé členy popisující změny energie na pravé straně rovnice (1.1.1.1) jsou na sobě nezávislé, splňují podmínku aditivity. Každý člen lze rozdělit na příspěvek solutu a

příspěvek solventu k dané interakci. V současné době patří k nejpoužívanějším LSER vztahům Abrahamův solvatační model (kap. 1.1.7).

1.1.1 Obecný mechanismus retence a solvatace

Retence analytů v rozdělovací chromatografii je založena na přechodu analytu z mobilní do stacionární fáze:



V rovnici (1.1.1.2) $A_{(m)}$ je analyt v mobilní fázi a $A_{(s)}$ analyt ve stacionární fázi.

$$K_D = \frac{c_{A(s)}}{c_{A(m)}} \quad (1.1.1.3)$$

Rozdělovací (distribuční) konstanta rovnice (1.1.1.2) je definována vztahem (1.1.1.3), kde $c_{A(s)}$ je koncentrace analytu v stacionární fázi a $c_{A(m)}$ koncentrace analytu v mobilní fázi. Retenční faktor popisující chování analytu v chromatografii je vyjádřen:

$$k_A = \frac{V_{R,A} - V_M}{V_M} = \frac{t_{R,A} - t_M}{t_M} = \frac{n_{A(s)}}{n_{A(m)}} = K_D \frac{V_s}{V_m} \quad (1.1.1.4)$$

V rovnici (1.1.1.4) k_A je retenční faktor látky (A), $V_{R,A}$ je retenční objem látky (A), V_M je mrtvý objem kolony, $t_{R,A}$ je retenční čas látky (A), t_M je mrtvý čas kolony, $n_{A(s)}$ je látkové množství analytu (A) ve stacionární fázi kolony, $n_{A(m)}$ je látkové množství analytu (A) v mobilní fázi, K_D je distribuční (rozdělovací) konstanta látky (A) mezi stacionární a mobilní fázi, V_s je objem stacionární fáze a V_m objem mobilní fáze.

Solvatace je popisována jako děj, při kterém jsou molekuly rozpuštěné látky (solutu) obalovány molekulami rozpouštědla (solventu) za vzniku nevazebných interakcí. V rozdělovací chromatografii hraje solvatační děj důležitou roli při přechodu

solutu mezi mobilní a stacionární fází. Modely pro popis retence zpravidla zahrnují proces solvatace. Konkrétně v LSER přístupu je uvažován tzv. kavitační model solvatace popsany níže [5]. Převod molekuly solutu do solventu lze rozdělit na tři následující kroky:

- 1) vytvoření dutiny (kavity) v rozpouštědle pro umístění molekuly solutu,
- 2) reorganizace molekul solventu okolo vzniklé dutiny
- 3) přechod molekuly solutu do dutiny v solventu a vznik nových interakcí mezi solutem a solventem

Krok 1)

Molekuly rozpouštědla jsou vzájemně drženy při sobě interakcemi, které se nazývají kohezivní síly. Pro vytvoření dutiny v solventu je nutno přerušit tyto vazby typu solvent-solvent. V přítomnosti solutu se molekuly rozpouštědla vzájemně oddělí a vytvoří dutinu (kavitu) velikostí a tvarem shodnou s molekulou solutu. Tento tzv. kavitační proces je endoergický děj, jehož energie je úměrná velikosti vytvořené dutiny a tedy i velikosti molekuly solutu.

Krok 2)

Molekuly solventu jsou reorganizovány okolo vzniklé dutiny, za účelem dosažení stabilnějšího rovnovážného stavu pro následné přijetí solutu. Celková změna Gibbsovy energie tohoto děje je podstatně menší, než energie spojená s kavitací a zpravidla se neuvažuje. Dochází však ke změnám entalpie a entropie molekul solventu, nicméně oba tyto příspěvky se vzájemně vyruší.

Krok 3)

Po umístění molekuly solutu do dutiny v rozpouštědle dojde ke vzniku nových vazeb typu solut-solvent. V případě neiontových sloučenin jsou tyto interakce charakterizovány jako disperzní, orientační, indukční a interakce vodíkové vazby. Proces spojený s tvorbou nových vazeb solut-solvent je exoergický děj.

Tento jednoduchý model uvažuje izolovanou molekulu solutu (např. v plynné fázi) přecházející do solventu. Při přechodu solutu rozpuštěného v jedné fázi do druhé

fáze je nutno ještě uvažovat proces uzavření kavity v první fázi. Z uvedeného schématu je patrné, že solvatace látek je výsledkem dvou protichůdných dějů: tvorbou kavit (krok 1) a interakcí mezi solutem a okolním solventem (krok 3).

1.1.2 LSST model (Linear solvent strength theory)

Tento model se řadí mezi nejrozšířenější a nejvíce používané přístupy pro vyjádření vztahu mezi retenčním chováním solutu a složením mobilní fáze [6-10]. Popisuje retenci analytu v RPLC v závislosti na objemovém zlomku organického rozpouštědla v mobilní fázi:

$$\log k = \log k_w - S\phi \quad (1.1.2.1)$$

k retenční faktor solutu pro dané složení mobilní fáze, tvořené binární směsí vody a organického rozpouštědla,

k_w retenční faktor solutu v mobilní fázi tvořené čistou vodou,

ϕ objemový zlomek organického rozpouštědla v mobilní fázi,

S parametr zahrnující vlastnosti solutu a daného organického rozpouštědla.

Model LSST není jen empirickým vztahem, ale vychází z termodynamických základů retence [11,12]. Výraz $\log k$ má rozměr volné energie přechodu solutu z mobilní do stacionární fáze. Za předpokladu, že stacionární fáze se nemění vlivem složek mobilní fáze a poměr objemů fází V_s/V_m je stejný, parametr S odpovídá volné energii přechodu solutu z čisté vody do organického rozpouštědla. Hodnota S je tedy z teoretického hlediska, nezávislá na vlastnostech stacionární fáze. Tento parametr rovněž udává solvatační (eluční) sílu organického rozpouštědla mobilní fáze, nicméně S se mění také podle charakteru solutu. S rostoucí velikostí molekuly a menší polaritou analytu se hodnota S zvětšuje.

Hodnota $\log k_w$ je vztažena k volné energii přechodu solutu z vody do stacionární fáze. Parametr $\log k_w$ se zpravidla získává ze vztahu (1.1.2.1) extrapolací $\log k$ na

nulovou koncentraci rozpouštědla ($\phi = 0$) v mobilní fázi. Extrapolované hodnoty $\log k_w$ pro danou látku na stacionární fázi často bývají odlišné na základě použité metody. Výsledky se mění podle druhu organického rozpouštědla, šířce měřeného rozsahu složení mobilní fáze a i počtu bodů závislosti $\log k$ vs ϕ . Experimentálně určené hodnoty $\log k_w$ rovněž nebývají totožné s výsledky získanými extrapolací.

Rozdíly v experimentálně určených hodnotách S a $\log k_w$ liší se podle použité metody stanovení, neumožňují širší využití těchto parametrů pro popis retenčních vlastností. Nelze je proto považovat za deskriptory charakterizující soluty či organická rozpouštědla.

Přesto oba zmíněné parametry LSST rovnice nabývají určitého kvalitativního významu pro charakteristiku vlastností solutu a rozpouštědla. Míra hydrofobicity analytu může být vyjádřena výrazem $\log k_w$. Byla nalezena dobrá korelace mezi $\log k_w$ a logaritmem rozdělovacího koeficientu oktanol-voda ($\log P_{ow}$). Parametr S může udávat eluční sílu solventu i přesto, že je ovlivněn analytem. Jako příklad lze uvést hodnoty S získané z retence látek v mobilních fázích směsi vody a různých organických rozpouštědel: $S = 2,6$ (methanol); $S = 3,2$ (acetonitril); $S = 4,5$ (tetrahydrofuran).

Použitelnost vztahu (1.1.2.1) je omezena platností na úzký rozsah složení mobilní fáze. Největší odchylky od uvedené rovnice nastávají v krajních koncentracích organického rozpouštědla ($\phi \rightarrow 0$ a $\phi \rightarrow 1$). Důvodem bývá skutečnost, že v mobilní fázi s vysokým obsahem vody již není stacionární fáze dostatečně smáčena rozpouštědlem a dochází tak ke strukturním změnám uspořádání navázaných alkylových řetězců. Naopak v prostředí silně koncentrovaného organického rozpouštědla přestává být uplatňován hydrofobní efekt mobilní fáze a zvyšují se silanofilní interakce podporující adsorbční mechanismus separace. Parametr $\log k_w$ nachází použití v charakterizaci stacionárních fází a rovněž jako určité hledisko polarity/hydrofobicity analytu.

Modifikace vztahu LSST

Určitého zlepšení použitelnosti rovnice (1.1.2.1) lze dosáhnout kvadratickou závislostí, která umožňuje platnost v celém rozsahu složení mobilní fáze [13,14]:

$$\log k = \log k_w + S_1\phi + S_2\phi^2 \quad (1.1.2.2)$$

V rovnici (1.1.2.2) jsou S_1 a S_2 regresní koeficienty, jejichž význam je odlišný od původního parametru S (rovnice (1.1.2.1)). Tato varianta modelu LSST bývá v praxi nejčastěji používána. Hodnota $\log k_w$ získaná extrapolací pomocí této kvadratické rovnice se zpravidla liší od $\log k_w$ získané za stejných experimentálních podmínek, ale extrapolací z lineárního vztahu (1.1.2.1). Schoenmakers a kolektiv [11] rozšířil rovnici (1.1.2.2) o další člen pro větší přesnost v oblasti malých hodnot ϕ .

$$\ln k = c_0 + c_1\phi + c_2\phi^2 + c_3\sqrt{\phi} \quad (1.1.2.3)$$

Za zmínku stojí další podobné modely závislosti retence na složení mobilní fáze, které ale již nejsou vztaženy k logaritmu retenčního faktoru. Jsou založeny na více méně empirických základech [11]. Kowalska navrhla následující vztah (1.1.2.4), který byl původně určen pro použití v tenkovrstvé chromatografii na reverzní fázi a později použit i u HPLC.

$$k = \frac{1}{c_0 + c_1\sqrt{\phi} + c_2\sqrt{1-\phi}} - 1 \quad (1.1.2.4)$$

Lee a kolektiv vyjádřil jednoduchou relaci mezi retenčním faktorem a objemovým zlomkem ϕ :

$$k = c_0 + \frac{c_1}{\phi} \quad (1.1.2.5)$$

$$k = c_0 + \frac{c_1}{\phi} + \frac{c_2}{\phi^2} \quad (1.1.2.6)$$

V uvedených vztazích (1.1.2.3) až (1.1.2.6) c_0 , c_1 , c_2 , c_3 označují konstanty a regresní koeficienty, které mají pro každou z rovnic odlišný význam.

POZN.:

V kapitole 2 je model LSST použit k popisu retence látek. Pro větší přehlednost v textu zde pojem LSST označuje lineární nebo kvadratickou závislost $\log k$ na objemovém zlomku ϕ , popsanou rovnicemi (1.1.2.1) a (1.1.2.2).

1.1.3 Model parametrů rozpustnosti (Solubility parameter model)

Tento model je odvozen z Hildebrandovy teorie regulárních roztoků [15], která popisuje rozpustnost neelektrolytů v kapalině na základě tzv. parametrů rozpustnosti. Jejich definice je následující:

$$\delta_i = \left(\frac{\Delta E_i^v}{V_i} \right)^{1/2} = \left(\frac{-\Delta E_i^c}{V_i} \right)^{1/2} \quad (1.1.3.1)$$

δ_i je parametr rozpustnosti látky i ,

ΔE_i^v udává molární výparnou energii látky i ,

ΔE_i^c popisuje kohezivní energii (molární) mezi molekulami kapaliny i ,

V_i je molární objem látky i .

ΔE_i^v znázorňuje množství energie potřebné k oddělení molekul z kapaliny a přechodu do plynné fáze v nekonečném zředění. Poměr $(-\Delta E_i^c/V_i)$ je nazýván hustota kohezivní energie, nebo také kohezivní tlak molekul rozpouštědla. Parametr rozpustnosti udává míru vzájemné soudržnosti mezi molekulami kapaliny. V procesu solvatace je kohezivní energie spojena s tvorbou dutin (kavit) v solventu pro umístění molekul solutu, jak bylo uvedeno v kapitole 1.1.1. Parametr rozpustnosti je zpravidla udáván v jednotkách $\text{cal}^{1/2} \text{cm}^{-3/2}$, případně $\text{Pa}^{1/2}$, místo standardní SI jednotky $\text{J}^{1/2} \text{m}^{-3/2}$.

Koncept regulárních roztoků popisuje takový proces míšení složek, kde nedochází ke změnám směšovací entropie. Tedy probíhá zde čistě entalpický děj z pohledu změn

energie. Jedná se o makroskopický přístup hodnotící celkový charakter roztoků. Předpokládá se, že vlastnosti směsí lze popsat na základě vlastností čistých složek. Při míšení se uvažuje aditivita složek, tedy změna vlastností roztoku je přímo úměrná množství jednotlivých složek v roztoku.

Teorie regulárních roztoků dobře popisuje rozpustnost nepolárních látek v nepolárních rozpouštědlech, kde převažují disperzní interakce. Parametr δ_i udává kvantitativní míru polaritý rozpouštědel. Pro názornost jsou zde uvedeny orientační hodnoty [16], např. nepolární kapaliny jako alkany mají $\delta_i=7$, s rostoucí polaritou se δ_i zvyšuje: tetrahydrofuran $\delta_i=10$, methanol $\delta_i=16$ a voda $\delta_i=25$ (uvedené hodnoty jsou v jednotkách $\text{cal}^{1/2} \text{cm}^{-3/2}$).

Spojitost parametrů rozpustnosti a chromatografické retence je vyjádřena pomocí aktivitních koeficientů. Teorie regulárních roztoků definuje aktivitní koeficient solutu (i) rozpuštěného ve fázi (f) následovně [16]:

$$\ln \gamma_{i,f}^H = \frac{V_i}{RT} (\delta_i - \delta_f)^2 \quad (1.1.3.2)$$

$\gamma_{i,f}^H$ aktivitní koeficient solutu (i) ve fázi (f). Horní index H označuje, že se jedná pouze o entalpický proces,

V_i molární objem látky (solutu) (i),

δ_i parametr rozpustnosti látky (solutu) (i),

δ_f parametr rozpustnosti fáze (f), ve které je solut rozpuštěn,

R univerzální plynová konstanta,

T termodynamická teplota.

V kapalinové chromatografii lze retenční faktor (k_i) vyjádřit jako poměr aktivitních koeficientů látky i v mobilní fázi a stacionární fázi podle rovnice:

$$k_i = \frac{\gamma_{i,m} \cdot n_s}{\gamma_{i,s} \cdot n_m} \quad (1.1.3.3)$$

Zde $\gamma_{i,m}$ je aktivitní koeficient látky i v mobilní fázi a $\gamma_{i,s}$ aktivitní koeficient látky i v stacionární fázi. Poměr (n_s/n_m) udává látkové množství stacionární fáze n_s a mobilní fáze n_m v chromatografické koloně. Spojením rovnic (1.1.3.2) a (1.1.3.3) se získá výsledný vztah popisující retenci látky pomocí parametrů rozpustnosti:

$$\ln k_i = \frac{V_i}{RT} \left((\delta_i - \delta_m)^2 - (\delta_i - \delta_s)^2 \right) + \ln \frac{n_s}{n_m} \quad (1.1.3.4)$$

δ_i parametr rozpustnosti látky (analytu) (i),

δ_m parametr rozpustnosti mobilní fáze,

δ_s parametr rozpustnosti stacionární fáze,

Pro praktické použití modelu k popisu retence v kapalinové chromatografii, bývá uváděna také tato forma rovnice [17]:

$$\log k = \log \Phi + \frac{V_i}{2,3 RT} \left((\delta_i - \delta_m)^2 - (\delta_i - \delta_s)^2 \right) \quad (1.1.3.5)$$

V rovnici (1.1.3.5) je Φ poměr objemů stacionární a mobilní fáze v chromatografické koloně. Směs rozpouštědel v mobilní fázi je popsána parametrem δ_m , zde se předpokládá aditivní chování složek podle rovnice:

$$\delta_{m, AB} = \phi_A \delta_A + \phi_B \delta_B \quad (1.1.3.6)$$

V rovnici (1.1.3.6) indexy (A), (B) označují dvě mísitelné kapaliny, δ_A a δ_B jsou parametry rozpustnosti složek A, B a ϕ udává objemový zlomek dané složky ve směsi kapalin AB.

Predikce rozdělovacích konstant či retenčních hodnot látek není příliš spolehlivá pomocí uvedeného modelu, zvláště v systémech s navázanými reverzními fázemi. Tento přístup se ukázal jako málo dostačující pro obecný popis retence, neboť interakce mezi solutem a fázemi jsou omezeny převážně na disperzní síly. Polární látky a rozpouštědla, schopná tvořit vodíkové můstky nebo interakce typu elektron-

donor/elektron-akceptor, se odchyľují od předpokládaného chování daného rovnicí (1.1.3.4). Zatímco δ_m a δ_i lze snadno vypočítat z fyzikálně-chemických dat [18], parametr stacionární fáze δ_s není možno určit s požadovanou přesností. Zmíněné skutečnosti vedou k omezenému použití tohoto modelu v chromatografii. Model parametrů rozpustnosti lze docela dobře použít k charakterizaci systémů rozdělování mezi dvě fáze, soustavy solut-solvent či vlastností rozpouštědel.

Následně byl představen rozšířený model parametrů rozpustnosti ESP (Extended Solubility Parameter), který navíc zahrnoval i polární interakce složek roztoku [16,19-21]. Takto bylo možno popisovat chování větší skupiny látek v širší škále polarit. Pro polární látky je nutné celkový parametr rozpustnosti (δ_{total}^2) rozdělit do několika jednotlivých příspěvků podle daných interakcí. Poté je celkový člen δ_{total}^2 určen:

$$\delta_{total}^2 = \delta_d^2 + \delta_o^2 + 2\delta_{ind}\delta_d + 2\delta_a\delta_b \quad (1.1.3.7)$$

Rozšířený model ESP byl odvozen pro popis retence v kapalinové chromatografii s normálními fázemi na systém kapalina-pevná látka a kapalina-kapalina. Rovněž byl použit i pro plynovou chromatografii v rozdělovací soustavě plyn-kapalina a plyn-pevná látka.

V mobilních fázích tvořených vodou či jinými polárními rozpouštědly, podporujícími vznik vodíkových vazeb, dochází k podstatně horší predikci selektivity a retenčního chování. Použité parametry rozpustnosti nejsou plně dostačující k přesnému popisu interakcí mezi analytem a fázemi. I přes další úpravy model nebyl příliš vhodný pro kvantitativní popis dělení látek v kapalinové a plynové chromatografii. Model ESP lze použít k výběru vhodného rozdělovacího systému kapalina-kapalina. Tento koncept dovede předpovídat trendy v interakcích sloučenin při optimalizaci, ale nedokáže predikovat konkrétní hodnoty distribuční konstanty nebo retence analytů.

Na Hildebrandových parametrech rozpustnosti je založen model MOSCED (Modified Separation of Cohesive Energy Density Model) [22]. Jedná se o termodynamický přístup určený pro výpočet aktivitních koeficientů při nekonečném zředění.

1.1.4 Model parametrů polarity (Polarity parameter model)

Podobně jako rovnice LSST (kap. 1.1.2), i tento model popisuje závislost logaritmu retenčního faktoru na objemovém zlomku organického rozpouštědla v mobilní fázi. V tomto případě je retence látky v kapalinové chromatografii definována na základě parametrů vlastností mobilní fáze, stacionární fáze a samotného solutu [23-26].

$$\log k = (\log k)_0 + p(P_m^N - P_s^N) \quad (1.1.4.1)$$

k retenční faktor dané látky,

$(\log k)_0$ parametr zahrnující charakter stacionární fáze,

p parametr popisující polaritu solutu,

P_m^N parametr polarity mobilní fáze,

P_s^N parametr polarity stacionární fáze.

Dále je P_m^N definován podle složení mobilní fáze pro směs acetonitril-voda a methanol-voda:

$$P_m^N = 1,00 - \frac{2,13 \phi}{(1 + 1,42 \phi)} \quad (\text{Acetonitril-voda}) \quad (1.1.4.2)$$

$$P_m^N = 1,00 - \frac{1,33 \phi}{(1 + 0,47 \phi)} \quad (\text{Methanol-voda}) \quad (1.1.4.3)$$

V rovnicích (1.1.4.2) a (1.1.4.3) ϕ označuje objemový zlomek organického rozpouštědla v mobilní fázi. Tato rovnice (1.1.4.1) prokazuje platnost lineárního vztahu mezi retencí a složením mobilní fáze, v celém rozsahu jejího složení, od 0 do 100 % organického rozpouštědla [27].

Parametr polarity P_m^N je odvozen od solvatochromní hodnoty $E_T(30)$, která se používá jako míra polarity rozpouštědel a mobilní fáze [28]. Závislost logaritmu retenčního faktoru solutu na hodnotě $E_T(30)$ mobilní fáze, ve které se mění podíl vody

a organického rozpouštědla, bývá lineární ve velmi širokém rozmezí jejího složení [29], na rozdíl od zmíněné závislosti $\log k$ vs ϕ , popsané modelem LSST (kap. 1.1.2).

Podle definice je $P_m^N = 1$ v prostředí čisté vody, platné pro obě mobilní fáze acetonitril-voda a methanol-voda. P_s^N charakterizuje převážně vlastnosti stacionární fáze, podobně jako výraz $(\log k)_0$. Pro hypotetický případ, kdy polarita mobilní fáze a stacionární fáze je stejná ($P_m^N = P_s^N$), člen $(\log k)_0$ odpovídá retenci daného solutu, jehož polarita nemá vliv na retenční chování. Jako referenční hodnota je určena $P_s^N = 1$ pro stacionární fázi Merck LiChrospher 100 RP-18 (100 x 5 mm). Jsou známy polarity solutu p pro asi 200 sloučenin, které se ale mírně liší podle toho, zdali bylo k jejich výpočtu použito mobilní fáze acetonitril-voda nebo methanol-voda.

Tento model bohužel nedokáže zcela odděleně charakterizovat jednotlivé vlastnosti obou fází a analytu. Parametr solutu p v sobě částečně odráží navíc i povahu mobilní a stacionární fáze. Rovněž ostatním parametrům ve vztahu ((1.1.4.1) nelze jednoznačně přiřadit pouze vlastnosti, uvedené v popisu této rovnice. Počet referenčních látek se známým parametrem p je navíc poměrně malý. Význam parametrů polarity spočívá převážně v možnosti přenosu retenčních dat mezi různými stacionárními fázemi nebo systémy rozpouštědel mobilních fází.

1.1.5 Modely založené na QSRR (Quantitative structure-retention relationships)

QSRR přístup zahrnuje závislost mezi retencí analytu a strukturními parametry molekuly [3]. Pokrývá širokou oblast vztahů s rozmanitými druhy parametrů solutu. Pro QSRR je typické použití molekulárních a strukturních deskriptorů, vypočtených pomocí teoretické chemie. Na výstavbu modelu se používají nejčastěji jednoduché nebo vícenásobné lineární regresní modely, kde jednotlivé členy v rovnici mohou i nemusí mít rozměr volné energie. Do kategorie QSRR patří i metody založené na jiných statistických technikách [30], jako jsou neuronové sítě (Artificial Neural Network, ANN), analýza hlavních komponent (Principal Component Analysis, PCA) a jiné.

Neboť tato práce je zaměřena na LSER přístup k popisu retence, jsou modely uvedené v této kapitole jen ilustrativní ukázkou QSRR pojetí. Za zmínku stojí definice

molekulárního deskriptoru uvedená v review skupiny Heyden, Put [30]: “Molekulární deskriptor je konečný výsledek logické a matematické procedury, která převádí chemickou informaci zakódovanou uvnitř symbolické reprezentace dané molekuly na použitelné číslo”.

Deskriptory používané v QSRR lze charakterizovat jako fyzikálně-chemické, kvantově-chemické, topologické a ostatní druhy [31]. Výhodou fyzikálně-chemických deskriptorů je poměrně velká korelace s retencí. Ovšem jejich dostupnost bývá omezená, případně jsou dosažitelné pouze s větší chybou odhadu. Kvantově-chemické deskriptory poskytují náhled do retenčního chování látek na molekulární úrovni, nicméně korelují poměrně málo s retencí a jejich výpočet bývá komplikovaný.

Topologické deskriptory jsou odvozené od vzájemné polohy jednotlivých atomů v molekule. Tyto parametry poskytují číselné vyjádření struktury, které umožňuje rozlišení některých strukturních změn, především rozvětvení, násobných vazeb nebo přítomnost kruhu. Topologické deskriptory bývají snadno vypočitatelné a poskytují mnohdy velmi přesné odhady [32,33], ale nejsou přímo vztažené k retenčnímu ději.

Mezi často používané QSRR formulace patří jednoduchý model CLOGP [34,35] odvozený od logaritmu rozdělovacího koeficientu oktanol-voda ($\log P_{ow}$):

$$\text{retention parameter} = k_1 + k_2 \log P \quad (1.1.5.1)$$

V rovnici (1.1.5.1) je $\log P$ hodnota rozdělovacího koeficientu oktanol-voda analytu vypočtená zpravidla pomocí počítačového programu, jako “retention parameter” lze použít např. logaritmus retenčního faktoru nebo jiné retenční veličiny a k_1, k_2 jsou konstanty rovnice (regresní koeficienty). Uvedený model je používán také pro charakterizaci stacionárních fází a výpočtu $\log k_w$ (kapitola 1.1.2).

Dalším často uváděným vztahem skupinou Kaliszan a kol [3] je rovnice (1.1.5.2):

$$\text{retention parameter} = k_1 + k_2 \mu + k_3 \delta_{\text{Min}} + k_4 A_{\text{WAS}} \quad (1.1.5.2)$$

k_1, k_2, k_3, k_4 regresní koeficienty,

μ celkový dipólový moment analytu,

δ_{Min} přebytečný elektronový náboj na nejvíce negativně nabitém atomu, analytu

A_{WAS} plocha povrchu dané molekuly analytu přístupná molekulám vody, jako “retention parameter” může být dosazen izokratický $\log k$ nebo gradientový retenční čas t_{R} .

Celkový dipólový moment analytu μ popisuje interakce typu dipól-dipól a dipól-indukovaný dipól. Parametr δ_{Min} vyjadřuje schopnost analytu zúčastnit se polárních interakcí. A_{WAS} znázorňuje intenzitu disperzních interakcí analytu typu Londonových sil. Vztah (1.1.5.2) lze rovněž použít pro výpočet $\log k_{\text{w}}$ solutu.

K odhadu a predikci retenčních vlastností látek pomocí QSRR je velmi často užíváno počítačových programů, určených pro výběr vhodné sady deskriptorů z rozsáhlé databáze použitelných parametrů pomocí statistických technik a následné statistické zpracování dat. Mezi uvedené programy patří např. CODESSA (Comprehensive Descriptors for Structural and Statistical Analysis) [36-38], použitelný obecně pro širší oblast vztahů struktury a vlastností látek QSPR (Quantitative structure property relationships), nebo software DRAGON [39] podobného zaměření.

Některé QSRR modely dovedou vypočítat velmi přesné odhady retence. Ve většině případů přesnost QSRR vztahů není dostačující k identifikaci sloučenin v chromatografii. QSRR jsou dále vhodné k objasnění retenčního mechanismu, optimalizaci separace nebo volbě experimentálního postupu práce. QSRR rovnice mnohdy neodpovídají studovanému ději, a proto jednotlivé koeficienty v modelech nemusí mít konkrétní fyzikálně-chemický význam. Výhodou LFER a LSER metod je použití takových členů v rovnici, které jsou přímo spojeny se změnami energie odpovídajících daným interakcím retenčního děje.

1.1.6 Kamlet-Taftův solvatochromní model

Kamlet-Taftův model představuje první podobu LSER vztahu použitou k popisu retence v chromatografii. Vývoj parametrů (deskriptorů), charakterizujících retenční vlastnosti analytu, byl spojen s původním záměrem popsat vlastnosti rozpouštědel jako je polarita nebo solvatační síla a jejich vliv na vlastnosti solutu. Rovněž bylo cílem nalézt vztah pro hodnocení vlivu rozpouštědla na různé efekty jako je posun hodnoty frekvence absorpčního maxima a intenzita absorpce (UV-VIS), rychlostní konstanty reakcí nebo rovnovážná konstanta reakce.

Solvatochromní parametry rozpouštědla

Solvatochromní parametry jsou založeny na solvatochromním efektu, tj. vlivu rozpouštědla na spektroskopické charakteristiky rozpuštěné látky (solutu) jako jsou frekvence absorpčního maxima a jeho posun, intenzita absorpčního pásu, případně tvar absorpčního pásu. Již delší dobu byly známy stupnice popisující polaritu a solvatační sílu rozpouštědla pomocí empirických solvatochromních parametrů jako je např. hodnota $E_T(30)$ (Dimroth-Reichardt) nebo Z-stupnice (Kosower), které jsou založené na jednom standardním barvivu, s jehož pomocí je celkově charakterizována polarita rozpouštědel [40].

Kamlet a Taft zavedli tři stupnice [41-43] popisující vlastnosti rozpouštědel podle jednotlivých interakcí π^*, α, β :

π^* je parametr dipolarity/polarizovatelnosti rozpouštědla, pojmenovaný podle přechodu v elektronovém spektru $p-\pi^*$ a $\pi-\pi^*$ provázejícím solvatochromní efekt. Udává, jakou měrou stabilizuje rozpouštědlo daný solut působením interakcí dipól-dipól a dipól-indukovaný dipól. Parametr α popisuje schopnost solventu působit jako donor při tvorbě vodíkové vazby se solutem a parametr β vyjadřuje schopnost solventu působit jako akceptor při tvorbě vodíkové vazby se solutem. Oba parametry α a β také znázorňují míru stabilizace solutu vlivem rozpouštědla na základě vodíkových vazeb.

Každá stupnice je založena na solvatochromním efektu měřeném pomocí specifických barviv, individuálně vybraných pro charakteristiku daného studovaného děje. Standardní barviva jsou volena tak, aby nevytvářela smíšené interakce a byla pokud možno citlivá přednostně jen na vybraný děj. Například barviva pro stupnici π^* by neměla vykazovat interakce s vodíkovou vazbou, kde barvivo je akceptorem vodíkového protonu, poskytnutého rozpouštědlem jako donorem. Na konstrukci stupnic polarity je vybráno více jak 10 barviv (indikátorů) připadajících pro popis jednoho typu rozpouštědla.

Zde je znázorněn vztah pro výpočet solvatochromního parametru dipolarity/polarizovatelnosti π^* :

$$\pi^* = \frac{\nu - \nu_{\text{cyklohexan}}}{\nu_{\text{DMSO}} - \nu_{\text{cyklohexan}}} \quad (1.1.6.1)$$

V rovnici (1.1.6.1) ν je frekvence absorpčního maxima daného barviva (indikátoru) v přítomnosti studovaného rozpouštědla, $\nu_{\text{cyklohexan}}$ je frekvence absorpčního maxima daného barviva v přítomnosti cyklohexanu a ν_{DMSO} je frekvence absorpčního maxima daného barviva v přítomnosti dimethylsulfoxidu.

Pro cyklohexan je definována hodnota $\pi^* = 0$ a pro dimethylsulfoxid $\pi^* = 1$. Posun absorpčního maxima indikátoru lze vyjádřit:

$$\nu = \nu_0 + s\pi^* \quad (1.1.6.2)$$

V rovnici (1.1.6.2) je ν_0 frekvence absorpčního maxima barviva v cyklohexanu jako standardu, koeficient s vyjadřuje citlivost barviva na posun frekvence absorpčního maxima ν a π^* je hodnota parametru dipolarity/polarizovatelnosti rozpouštědla.

Podobným způsobem byly sestaveny i stupnice parametrů α a β , kde byla použita tzv. solvatochromní komparační metoda [44]. Ta umožňuje při vhodné volbě referentního a studovaného solutu (barviva) kvantitativně vyjádřit míru interakce mezi rozpouštědlem a solutem, na základě posunu frekvence absorpčního maxima pro

měřené barvivo a referentní indikátor působením vlivu rozpouštědla. Takto získané parametry, jež mají rozměr energie, lze použít k popisu solvatačního děje.

Formulace Kamlet-Taftova modelu

Kamlet-Taftův model byl vyvíjen od konce 70. Let, z původní formulace vztahu se solvatochromními parametry (deskriptory) pro popis vlastností rozpouštědla [40] a jeho vlivu na různé efekty, uvedené v předchozí části. Vycházelo se z rovnice:

$$XYZ = (XYZ)_0 + s\pi^* + a\alpha + b\beta \quad (1.1.6.3)$$

V rovnici (1.1.6.3) XYZ označuje obecně vlastnost solutu ovlivněnou solventem, která je vztažena k volné energii. Může zastupovat např. rychlostní konstantu reakce, rovnovážnou konstantu reakce, spektroskopické parametry jako je poloha frekvence absorpčního maxima a jeho intenzita. $(XYZ)_0$ je konstantní člen vlastnosti solutu nezávislý na vlivu solventu, π^* , α , β jsou solvatochromní parametry rozpouštědla, pocházející z Kamlet-Taftovy stupnice zmíněné v předchozí části. Koeficienty s , a , b jsou parametry solutu, které udávají citlivost dané vlastnosti XYZ ke změně vlivem rozpouštědla, pro jednotlivé typy interakcí znázorněné členy na pravé straně rovnice (1.1.6.3). Parametr α je také nazýván deskriptor acidity vodíkové vazby (hydrogen-bond acidity) a parametr β deskriptorem bazicity vodíkové vazby (hydrogen-bond acidity).

Člen $s\pi^*$ charakterizuje interakce typu dipól-dipól a dipól-indukovaný dipól, $a\alpha$ odpovídá tvorbě vodíkových vazeb se solutem, kde solvent je donorem vodíkového protonu a $b\beta$ popisuje tvorbu vodíkových vazeb se solutem, kde rozpouštědlo je akceptor vodíkového protonu.

Později byla rovnice (1.1.6.3) upravena přidáním korekčního členu $d\delta$ k parametru π^* , pro aromatická ($\delta=1$) a polyhalogenovaná ($\delta=0,5$) rozpouštědla [40,44]. Dále byl doplněn příspěvek $m\delta_H^2$ pro kavitační efekt solventu. Výsledná rovnice měla podobu:

$$XYZ = (XYZ)_0 + s(\pi^* + d\delta) + a\alpha + b\beta + m\delta_H^2 \quad (1.1.6.4)$$

V rovnici (1.1.6.4) mají členy stejný význam jako v předchozím vztahu (1.1.6.3), δ_H^2 je Hildebrandův parametr rozpustnosti popisující endoergické síly při vytváření dutin v rozpouštědle (kap. 1.1.3). Vyjadřuje energii spojenou s tvorbou kavit mezi molekulami solventu, velikostí a tvarem odpovídajících rozměrům solutu. S uvedenou rovnicí (1.1.6.4) je spojován pojem LSER, zavedený autory Kamlet, Taft a kol. Původní formulace LSER bývá uváděna v různých obdobách [4].

Dále se zjistilo, že vztah (1.1.6.4) může sloužit k popisu rozdělovací rovnováhy kapalina-kapalina a kapalina-plyn. Současně došlo k podstatné změně ve formulaci rovnice. Vztah, který byl původně vyvinut k charakteristice rozpouštědel a jejich vlivu na určitou vlastnost solutu, byl nyní upraven na popis solvatačních vlastností solutu v prostředí rozpouštědla. Tedy sledované vlastnosti jsou parametry (deskriptory) solutu a nikoliv solventu, jak bylo doposud uváděno v předchozích rovnicích. Tyto parametry, charakterizující rozpouštědlo z pohledu celkových vlastností kapaliny (bulk properties), lze také použít k popisu solutu, který zpravidla vystupuje jako oddělená individuální molekula obklopená solventem. Pro takový popis je nutné v některých případech provést úpravy a korekce, které jsou mnohdy zásadní. Rovnice byla upravena přidáním indexu (2) pro solut a (1) pro solvent a také doplněna novým parametrem $V_2/100$ popisujícím velikost molekuly rozpuštěné látky. V_2 je McGowanův charakteristický objem molekuly (molární objem), znázorňující disperzní a nepolární interakce při solvataci solutu. Regresní koeficienty m , s , a , b zahrnují vlastnosti rozpouštědla.

$$XYZ = (XYZ)_0 + mV_2/100 + s\pi_2^* + a\alpha_2 + b\beta_2 \quad (1.1.6.5)$$

Výsledná rovnice (1.1.6.5) byla schopna popsat mnoho fyzikálně-chemických procesů [4,40], kromě již zmíněných spektroskopických jevů a vlivu rozpouštědla na rychlost chemické reakce či ustanovení výsledné rovnováhy, také rozdělovací rovnováhy (např. oktanol-voda), predikci biologické aktivity a toxicity látek a podobně.

Jednou z prvních aplikací vztahu (1.1.6.5) byl popis dělení látek v kapalinové chromatografii [45]. Také se zjistila lineární závislost mezi logaritmem retenčního faktoru a solvatochromním parametrem mobilní fáze, hodnotou $E_T(30)$, která charakterizuje polaritu a solvatační sílu rozpouštědla [46] (viz kap. 1.1.4). Tato závislost vykazovala linearitu v širokém rozsahu složení mobilní fáze, lépe než používaný vztah $\log k$ vs ϕ (kap. 1.1.2). Dobrá korelace parametru $E_T(30)$ s deskriptory mobilní fáze π^* a α , znázorněná v rovnici (1.1.6.6), rovněž potvrdila platnost teorie LSER [40,47].

$$E_T(30) = 31,00 + 13,43\pi_1^* + 15,06\alpha_1 \quad (1.1.6.6)$$

($R = 0,984$; $SE = 1,65$; $n = 40$)

V rovnici (1.1.6.6) R je korelační koeficient n počet měření, a SE směrodatná odchylka regresní závislosti.

Konečná podoba Kamlet-Taftova modelu pro popis retence v RPLC je následující [40,48]:

$$\log k = (\log k)_0 + mV_2/100 + s\pi_2^* + a\alpha_2 + b\beta_2 \quad (1.1.6.7)$$

Zde $(\log k)_0$ označuje konstantu nezávislou na vlastnostech solutu. Ostatní parametry jsou shodné jako v rovnici (1.1.6.5). Regresní koeficienty m , s , a , b charakterizují stacionární a mobilní fázi na základě parametrů δ_H^2 , π^* , α , β . Jejich detailnější popis bude uveden v následující kapitole (1.1.7).

Kamlet-Taftův model je doposud využíván pro popis nejrůznějších dějů v rozpouštědle. V kapalinové chromatografii jsou solvatochromní deskriptory stále používány k charakterizaci jednotlivých vlastností mobilní fáze na základě LSER vztahu. Další aplikací solvatochromních deskriptorů je model SPACE (Solvatochromic Parameters for Activity Coefficient Estimation) [49], určený pro výpočet aktivitních koeficientů neiontových roztoků při nekonečném zředění. Jedná se o modifikaci metody MOSCED (kap. 1.1.3), rozšířenou o solvatochromní parametry solutu a solventu.

1.1.7 Abrahamův solvatační model (LSER)

Současná podoba LSER vztahu formulovaného Michaellem H. Abrahamem pro popis retence v kapalinové a plynové chromatografii je vyjádřena [1]:

$$\log k = \nu V + eE + sS + aA + bB + c \quad \text{LC (kapalina-kapalina)} \quad (1.1.7.1)$$

$$\log k = lL + eE + sS + aA + bB + c \quad \text{GC (plyn-kapalina)} \quad (1.1.7.2)$$

V rovnicích (1.1.7.1) a (1.1.7.2) velká písmena V, E, S, A, B, L označují deskriptory (parametry) analytu a malá písmena ν, e, s, a, b, l znázorňují regresní koeficienty, včetně konstanty c ,

$\log k$ logaritmus retenčního faktoru analytu,

V McGowanův charakteristický objem,

E Přebytková molární refrakce,

S deskriptor dipolarity/polarizovatelnosti,

A celková acidita vodíkové vazby analytu,

B celková bazicita vodíkové vazby analytu,

L logaritmus rozdělovacího koeficientu plyn-hexadekan ($\log L^{16}$).

Retence analytu ($\log k$) může být ve vztahu (1.1.7.1) a (1.1.7.2) vyjádřena i jinými veličinami, které odpovídají volné energii separačního děje. V plynové chromatografii je to např. retenční index (RI) nebo logaritmus specifického retenčního objemu. Členy solvatační rovnice (1.1.7.1) a (1.1.7.2) můžou být uvedeny v jiném pořadí, záleží na konkrétní publikaci a autorech.

Deskriptory popisují jednotlivé solvatační vlastnosti analytu, podle specifických typů interakcí. Jsou to čistě charakteristiky solutu nezávislé na teplotě, tlaku a jiných podmínkách separace.

Regresní koeficienty zahrnují vlastnosti separačního prostředí, tedy stacionární fáze, mobilní fáze a teploty. V literatuře bývají uváděny také pod pojmy systémové konstanty, systémové koeficienty, regresní parametry a jiné. Jejich číselná hodnota je také ovlivněna typem vyjádřené retenční veličiny na levé straně solvatační rovnice ($\log k, RI$ atd.).

LSER rovnice je konstruována k použití za konstantních podmínek separace, tj. pro izokratický retenční faktor v LC a izotermální retenční faktor či retenční index v GC, ale rovnice (1.1.7.1) a (1.1.7.2) lze aplikovat i pro gradientovou eluci s lineárním programem [12,50-52].

1.1.7.1 Historie a vývoj modelu

Abrahamův solvatační model byl zformulován na základě původního Kamlet-Taftova modelu (kap. 1.1.6). Hlavní změnou bylo použití solvatačních deskriptorů místo původních solvatochromních. Dále pak rozšíření o další člen pro polární interakce a zavedení nového parametru pro použití v systému plyn-kapalina. Kamlet-Taftova rovnice v popisu solvatačních dějů (rozdělovací rovnováha) ukazovala určité nedostatky. Především deskriptory získané ze spektroskopických dat (π^* , α , β) nebyly přímo vztaženy k změně Gibbsovy energie při solvataci a nezahrnovaly v sobě entropický příspěvek. Dále tyto solvatochromní parametry byly odvozeny pro kapaliny (rozpouštědla), a tedy použití pro pevné látky bylo komplikované.

Deskriptor V_2 (McGowanův charakteristický objem) Kamlet-Taftovy rovnice dobře popisoval rozdělování solutu mezi dvě kapaliny, kde se uplatňuje kavitační efekt, ale pro přechod solutu z plynné fáze do kapalného rozpouštědla byl nedostačující. Abraham a kolektiv navrhl empirický parametr $\log L^{16}$, který lépe zahrnoval disperzní interakce solut-solvent v systému plyn-kapalina [53]. Deskriptor $\log L^{16}$ je logaritmus rozdělovacího koeficientu plyn-hexadekan, vhodný pro popis retence v plynové chromatografii.

Významným přínosem M. H. Abrahama bylo sestavení stupnice acidity a bazicity vodíkové vazby [54] solutů. Ta byla vytvořena na základě měření rovnovážných konstant komplexační reakce (1.1.7.3) v prostředí rozpouštědla tetrachlormethanu.



Reakce (1.1.7.3) popisuje vznik vodíkové vazby mezi dvěma sloučeninami reagující v poměru 1:1.

A-H látka schopná nabídnout vodíkový proton pro vznik vodíkové vazby(donor),

B látka schopná přijmout vodíkový proton za vzniku vodíkové vazby (akceptor),
A-H...B komplex sloučenin A-H, B spojených vodíkovou vazbou.

Pro měření acidity solutů bylo použito referenční báze (dimethyl sulfoxid, tetrahydrofuran aj.). Byly určeny rovnovážné konstanty reakce (1.1.7.3) pro celou řadu solutů (A-H) v prostředí jedné referenční báze (B). Poté byla zvolena další referenční báze (B) a opět změřeny rovnovážné konstanty solutů. Celkem bylo použito nejméně 45 referenčních bazí. Výsledkem byla rovnice rovnovážné konstanty reakce (1.1.7.3):

$$\log K = L_B \log K_A^H + D_B \quad (1.1.7.4)$$

V rovnici (1.1.7.4) je K rovnovážná konstanta reakce (1.1.7.3), $\log K_A^H$ je parametr charakterizující aciditu vodíkové vazby měřeného solutu, L_B a D_B jsou koeficienty přiřazené dané referenční bázi (B) použité pro měření acidity řady solutů (A-H). Člen znázorňující míru acidity vodíkové vazby solutu $\log K_A^H$ byl tedy vztažen ke změně Gibbsovy energie. Grafické znázornění vztahu (1.1.7.4) pro různé referenční báze (B) ukazovalo sérii přímek, které se protínaly v jednom společném bodě. Tento tzv. "magický bod" byl použit jako přirozená nulová hodnota pro všechny soluty s nulovou aciditou vodíkové vazby. Poté lze přepsat rovnici (1.1.7.4) do tvaru, kde látky s $\log K_A^H = -1,1$ mají aciditu rovnou nule:

$$\alpha_2^H = (\log K_A^H + 1,1)/4,636 \quad (1.1.7.5)$$

V uvedené rovnici (1.1.7.5) je α_2^H deskriptor acidity vodíkové vazby solutu. Podobně se postupovalo při stanovení bazicity vodíkové vazby látek (B) podle rovnice (1.1.7.3), kde byla přítomna naopak referenční kyselina (A-H). Rovněž se ukázal společný bod, použitelný jako nulová hodnota bazicity vodíkové vazby solutu. Deskriptor bazicity vodíkové vazby β_2^H je definován (1.1.7.6):

$$\beta_2^H = (\log K_B^H + 1,1)/4,636 \quad (1.1.7.6)$$

V rovnici (1.1.7.6) je $\log K_b^H$ parametr charakterizující bazicitu měřeného solutu. Pro rovnovážnou konstantu K reakce (1.1.7.3) existuje společný vztah obou deskriptorů:

$$\log K = 7,354 \alpha_2^H \beta_2^H - 1,094 \quad (1.1.7.7)$$

$$(R = 0,9956; SD = 0,09; n = 1312)$$

V rovnici (1.1.7.7) je R korelační koeficient, SD směrodatná odchylka a n počet měření regresní závislosti. Tyto deskriptory popisují aciditu a bazicitu solutu, který reaguje se solventem v poměru 1:1. V prostředí rozpouštědla bývá molekula solutu obklopena solventem a může tedy docházet k vícenásobným vodíkovým vazbám na různých místech molekuly solutu. Proto byla zavedena tzv. efektivní (součtová) acidita $\Sigma \alpha_2^H$ a efektivní (součtová) bazicita $\Sigma \beta_2^H$ solutu. Tyto hodnoty deskriptorů byly získány pomocí zpětného výpočtu z regresních závislostí solvatační rovnice.

Parametr π^* Kamlet-Tafovy rovnice nedokázal plně zahrnout polarizovatelnost solutu a zároveň jeho dipolaritu, proto bylo nutno rozšířit rovnici o korekční člen pro zmíněné polární interakce, zvláště u aromatických a polyhalogenovaných sloučenin. Jako nejvhodnější deskriptor se ukázala tzv. přebytková molární refrakce R_2 . Tento parametr [55] je odvozený od hodnoty molární refrakce látky, od které je odečtena molární refrakce hypotetického alkanu, který má stejný molární objem (stejnou velikost molekuly) jako daná látka.

Bylo nutno upravit i solvatochromní deskriptor π^* , aby byl vztažen ke změně Gibbsové energie. Zpětným výpočtem ze solvatační rovnice, popisující měřenou retenci analytů na polárních fázích v plynové chromatografii, byl získán solvatační deskriptor dipolarity/polarizovatelnosti [56] označený π_2^H . Horní index (H) u všech uvedených parametrů označuje, že se jedná o deskriptor získaný ze solvatačního děje.

Výsledkem uvedených změn byla rovnice ve dvou konečných podobách pro popis rozdělovací rovnováhy kapalina-kapalina (1.1.7.8) a plyn-kapalina (1.1.7.9), označovaná také jako Abrahamova solvatační rovnice [54], publikovaná v roce 1993:

$$SP = mV_x + rR_2 + s\pi_2^H + a\Sigma\alpha_2^H + b\Sigma\beta_2^H + c \quad (1.1.7.8)$$

$$SP = I \log L^{16} + rR_2 + s\pi_2^H + a\Sigma\alpha_2^H + b\Sigma\beta_2^H + c \quad (1.1.7.9)$$

V rovnicích (1.1.7.8) a (1.1.7.9) SP označuje vlastnost solutu (solut property) vztáženou k volné energii solvatace. Později bylo použito jednodušší označení symbolů pomocí velkých a malých písmen, jak je uvedeno v rovnici (1.1.7.1) a (1.1.7.2). Jednotlivé členy byly přejmenovány takto: $mV_x = vV$, $rR_2 = eE$, $s\pi_2^H = sS$, $a\Sigma\alpha_2^H = aA$, $b\Sigma\beta_2^H = bB$, $I\log L^{16} = IL$.

1.1.7.2 Deskriptory solutu

V (McGowanův charakteristický objem)

Deskriptor V je McGowanův charakteristický objem (V_x), nebo také molární objem (kap. 1.1.6) [57] udávající rozměr molekuly solutu. V kapalinové chromatografii je tento parametr součástí členu (vV), který popisuje kavitační děje při solvataci solutu a zároveň disperzní nepolární interakce solutu s okolním rozpouštědlem. Lze jej snadno spočítat na základě znalosti molárních objemů jednotlivých atomů v molekule a počtu vazeb. Jako jediný deskriptor lze jej získat pro libovolnou látku bez potřeby dalších experimentálních dat. Je nezávislý na skupenství sloučeniny, zpravidla udáván v jednotkách $\text{cm}^3 \text{mol}^{-1}/100$. Hodnota McGowanova objemu je totožná pro všechny izomery se stejným počtem atomů, v homologických řadách narůstá o konstantní příspěvek. Deskriptor V zahrnuje pouze velikost objemu molekuly, nikoliv její tvar.

$L (\log L^{16})$

Deskriptor L je definován [57] jako logaritmus rozdělovacího koeficientu solutu mezi plynnou fázi a hexadekanem ($\log L^{16}$) při 25°C. Popisuje disperzní nepolární interakce a rovněž kavitační proces v plynové chromatografii (rovnováha plyn-kapalina). Na rozdíl od McGowanova charakteristického objemu rozlišuje kromě velikosti také tvar molekul a tedy i jednotlivé izomery sloučenin.

Pro málo těkavé látky je získáván zpětným výpočtem (regresí) ze solvatační rovnice. Lze stanovit přímo experimentálně jako rozdělovací koeficient, ale častěji se určuje z retenčních dat analytů měřených plynovou chromatografií na stacionární fázi hexadekanu při 25°C. Existuje několik různých metod pro chromatografické stanovení

$\log L^{16}$ na odlišných stacionárních fázích a při různých teplotách [5,12,53,58-62]. Uvedený parametr lze také s určitou přesností odhadnout pomocí výpočetních metod. L je empirický deskriptor, který v sobě odráží nejen nepolární interakce, ale také částečně polarizovatelnost solutu, popisovanou jinými parametry. Bohužel tento efekt vnáší určitou nepřesnost do solvatační rovnice, postavené na rozdělení jednotlivých typů interakcí.

E (přebytková molární refrakce)

Deskriptor E popisuje míru polarizovatelnosti solutu, tedy jak snadno může být deformován elektronový oblak molekuly. Člen eE udává míru polárních interakcí mezi solutem a solventem spojených s přítomností polarizovatelných π a n -elektronů v molekule. Tento člen byl zaveden do Abrahamovy solvatační rovnice jako korekční příspěvek k disperzním interakcím popsáných kavitačním členem (V_v nebo IL) a zároveň doplněk interakcí zastoupených deskriptorem dipolarity/polarizovatelnosti (S). Uvedené skutečnosti vedou k složitější interpretaci členu eE z pohledu jednotlivých solvatačních efektů.

Deskriptor E je definován jako tzv. přebytková molární refrakce, určená rozdílem molární refrakce solutu a molární refrakce hypotetického alkanu, který má stejný molární objem (velikost) jako solut [5,12,55,58]. Jednotkou E je $\text{cm}^3 \text{mol}^{-1}/10$.

$$E = MR_{(x)} - MR_{(N)} \quad (1.1.7.10)$$

$$MR_{(x)} = 10V_x \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \quad (1.1.7.11)$$

V rovnicích (1.1.7.10) a (1.1.7.11) $MR_{(x)}$ označuje molární refrakci solutu (x), $MR_{(N)}$ je molární refrakce hypotetického alkanu o stejném molárním objemu V_x (McGowanův charakteristický objem) a n je index lomu solutu jako kapaliny při 20°C. Molární refrakci hypotetického alkanu lze vypočítat z následující rovnice:

$$MR_{(N)} = 2,83195V_x - 0,52553 \quad (1.1.7.12)$$

$$(R = 0,99999; SD = 0,0078; n = 13)$$

V rovnici (1.1.7.12) je R korelační koeficient, SD směrodatná odchylka a n počet měření regresní závislosti. Tedy deskriptor E znázorňuje polarizovatelnost solutu, kterou má solut navíc v porovnání se stejně velkou molekulou nepolárního alkanu. Podle definice je $E = 0$ pro alkany a pro méně polarizovatelné sloučeniny, než jsou alkany, nabývá E záporných hodnot (např. fluorované uhlovodíky, organokřemičité sloučeniny). Deskriptor E je přímo vypočitatelný pro látky kapalné při 20°C, u pevných sloučenin, jejichž index lomu nelze experimentálně stanovit, je nutno index lomu vypočítat pomocí odhadových metod. Přesnost hodnoty E je tedy převážně určena přesností stanovení indexu lomu, použitého k výpočtu deskriptoru solutu. Stejně jako molární refrakce, i deskriptor E je aditivní vlastností struktury molekul solutu.

S (dipolarita/polarizovatelnost)

Deskriptor dipolarity/polarizovatelnosti S popisuje polární vlastnosti solutu: schopnost utvářet permanentní dipól a zároveň být polarizován okolními molekulami za vzniku indukovaného dipólu [5,12,56,58].

Solvatační deskriptor S je odvozen od původního solvatochromního parametru π^* Kamlet-Taftova modelu (kap. 1.1.6). Jedná se o bezrozměrný parametr. Člen sS v LSER rovnici (1.1.7.1) a (1.1.7.2) odpovídá příspěvku volné energie solvatace spojené s polárními interakcemi mezi solutem a solventem typu dipól-dipól a dipól-indukovaný dipól. Nejsou dosažitelné takové deskriptory solutu, které by dokázaly od sebe odlišit dipolaritu a polarizovatelnost.

Nepolární alkany mají $S = 0$, málo polarizovatelné sloučeniny mohou mít i negativní hodnotu. Vysokých hodnot S dosahují aromáty jako 4-nitroanilin a polyaromatické uhlovodíky. Deskriptor S je získáván zpětným výpočtem ze solvatační rovnice, zpravidla z retence solutů v plynové chromatografii na polárních stacionárních fázích.

A (acidita)

Deskriptor *A* označuje celkovou (efektivní) aciditu vodíkové vazby solutu, dříve označovanou $\Sigma\alpha_2^H$. Suma ve členu znázorňuje součet všech možných vodíkových vazeb, utvořených molekulou solutu interagujícího s nadbytkem rozpouštědla (viz kap. 1.1.7.1). Člen aA popisuje změnu energie solvatace, spojenou s tvorbou vodíkových vazeb mezi solutem a solventem, kde solut je donorem vodíkového protonu a rozpouštědlo akceptorem. Deskriptor *A* [5,12,54,58] je získáván zpětným výpočtem ze solvatační rovnice, pomocí retence analytů vykazujících aciditu na polárních stacionárních fázích.

Látky, které nejsou schopny vytvářet vodíkové vazby, mají $A=0$. Jako příklad acidity solutů lze uvést: (nitroethan, $A=0,02$; ethanol, $A=0,37$; kyselina octová, $A=0,61$; voda, $A=0,82$; Hydrochinon, $A=1,16$).

B (bazicita)

Podobně jako u předchozího deskriptoru, *B* představuje celkovou (efektivní) bazicitu vodíkové vazby solutu označovanou $\Sigma\beta_2^H$. Parametr *B* [5,12,54,58] vyjadřuje schopnost utvářet vodíkové vazby, kde solut je akceptorem vodíkového protonu a rozpouštědlo je donorem (viz Historie a vývoj modelu). Člen bB tedy znázorňuje příspěvek solvatační energie, odpovídající vzniku vodíkových vazeb mezi solutem (akceptor) a solventem (donor). Deskriptor *B* je získáván zpětným výpočtem ze solvatační rovnice, pomocí retence analytů vykazujících bazicitu na polárních stacionárních fázích.

Pro určité soluty, interagující vodíkovou vazbou v prostředí obsahujícím vodu, byl zaveden náhradní deskriptor B^0 . Jedná se o látky s tzv. proměnlivou bazicitou [1,12]: alkylaminy, dusíkaté heterocykly, aniliny a sulfoxidy. Tyto sloučeniny ve vodném prostředí vykazují odlišné chování, které nelze dostatečně přesně popsat parametrem *B*. Proto je nutné za těchto podmínek použít deskriptor B^0 , zejména při HPLC separaci, popisu rozdělování mezi oktanol-vodu, v micelárních systémech, rozdělovacích rovnováhách v biologických systémech aj. Příklad hodnot bazicity látek: (ethen, $B=0,07$; nitroethan, $B=0,33$; anilin, $B=0,41$ ($B^0=0,50$); acetaldehyd, $B=0,45$; ethylamin, $B=0,61$; dimethyl ftalát, $B=0,88$).

Deskriptory A , B popisují schopnost solutu interagovat pomocí vodíkové vazby se solventem. Nejedná se zde o děj, kdy dochází k disociaci sloučeniny, tedy odštěpení H^+ protonu a vzniku nabitých částic, jako v případě acidobazické rovnováhy.

Iontové analyty

Solvatační rovnice je určena především k popisu neutrálních sloučenin, ale umožňuje popis retence i pro nabitě látky ve formě disociovaných iontů [1,63]. Pro tyto analyty je rovnice (1.1.7.1) rozšířena o dva členy pro elektrostatické interakce: $j^+J^+ + \bar{j}^-J^-$. Deskriptor pro kationty je označen J^+ a pro anionty J^- . Solvatační rovnice zahrnující tyto interakce má tvar:

$$\log k = vV + eE + sS + aA + bB + j^+J^+ + \bar{j}^-J^- + c \quad (1.1.7.13)$$

Oba tyto iontové deskriptory J^+ a J^- jsou získávány na základě hodnot rozdělovacího koeficientu iontového páru tvořeného studovaným iontem a činidlem Ph_4As^+/Ph_4B^- (tetrafenylarsenium kationt/tetrafenylborát aniont). Parametry j^+ a \bar{j}^- jsou regresní koeficienty, zahrnující vliv mobilní a stacionární fáze k iontovým interakcím.

Další modifikací solvatační rovnice pro popis retence iontových sloučenin je použití deskriptorů D^+ a D^- , zejména pro popis disociovaných kyselin a bází [12,64] vlivem pH mobilní fáze:

$$\log k = vV + eE + sS + aA + bB + d^+D^+ + d^-D^- + c \quad (1.1.7.14)$$

Deskriptor D udává stupeň disociace sloučeniny, tedy poměr koncentrace disociované formy analytu vůči celkové koncentraci analytu. Parametry d^+ a d^- v rovnici (1.1.7.14) jsou regresní koeficienty.

Deskriptory Abrahamova solvatačního modelu jsou známy pro více jak 5000 sloučenin, existují metody pro odhad deskriptorů u neznámých látek, založené na příspěvcích jednotlivých funkčních skupin v dané molekule. Skupina Platts-Butina vyvinula metodu pro výpočet všech 5-ti deskriptorů s různou přesností odhadu [65,66].

Další metoda zaměřená na odhad deskriptoru L ($\log L^{16}$) byla vytvořena skupinou Havelec-Ševčík [67-69]. Pro výpočet deskriptorů neznámých látek byl vyvinut program Absolv (ACD/Labs), který zahrnuje také databázi známých (experimentálně získaných) deskriptorů.

1.1.7.3 Regresní koeficienty solvatační rovnice

Abrahamova solvatační rovnice popisuje celkovou energii solvatace jako součet na sobě nezávislých členů-příspěvků, kde každý příspěvek změny energie odpovídá danému typu interakce. Každý člen je charakterizován jako součin parametrů solutu a solventu. Regresní koeficienty Abrahamovy solvatační rovnice [1,12,70-72] pro popis chromatografické retence zahrnují vlastnosti stacionární a mobilní fáze v podobě parametrů. Regresní koeficienty tvoří komplementární vlastnosti k jednotlivým deskriptorům popisujících selektivní interakce. V kapalinové chromatografii jsou vyjádřeny jako rozdíl parametrů stacionární fáze a mobilní fáze. Pro plynovou chromatografii je parametr mobilní fáze nulový, proto koeficienty popisují přímo vlastnost stacionární fáze.

Znaménko regresního koeficientu udává, zdali daný člen solvatační rovnice přispívá k retenci nebo naopak eluci analytu. Regresní koeficienty jsou získávány jako výsledek MLR, kde vstupními daty jsou retenční hodnoty látek a jejich deskriptory.

V kapalinové chromatografii je velikost regresního koeficientu dána rozdílem mezi specifickými parametry stacionární a mobilní fáze. Tedy nízká hodnota regresního koeficientu znamená malý rozdíl mezi vlastnostmi fází, ale nemusí ukazovat na malou schopnost obou fází interagovat s analyty.

Koeficient v

Popisuje schopnost mobilní a stacionární fáze vytvářet kavitu pro solut. Je zároveň mírou disperzních interakcí mezi solutem a fázemi. V RPLC zahrnuje hydrofobní efekt směsi vody a organického rozpouštědla mobilní fáze. Nabývá pozitivních hodnot přispívajících k retenci analytu. V důsledku uvedených kombinovaných interakcí může být jeho interpretace komplikovaná. Zpravidla je znázorňován jako rozdíl druhých

mocnin Hildebrandových parametrů rozpustnosti mobilní a stacionární fáze (kap. 1.1.3). Celková definice koeficientu v je vyjádřena vztahem:

$$v = k_v(v_s - v_m) = k_1(\delta_m^2 - \delta_s^2) + k_2(\lambda_s - \lambda_m) \quad (1.1.7.15)$$

Význam symbolů v rovnici (1.1.7.15): k_v , k_1 , k_2 jsou konstanty, v_s a v_m je parametr stacionární a mobilní fáze, δ_m^2 a δ_s^2 je Hildebrandův parametr rozpustnosti mobilní a stacionární fáze, λ_s a λ_m je parametr disperzních sil stacionární a mobilní fáze.

Koeficient e

Vyjadřuje schopnost stacionární a mobilní fáze vytvářet interakce typu indukovaný dipól-dipól se solutem pomocí π a n -elektronů. Polarizovatelnost obou fází je znázorněna deskriptorem přebytkové molární refrakce E .

$$e = k_e(E_s - E_m) \quad (1.1.7.16)$$

V rovnici (1.1.7.16) označuje k_e konstantu, E_s a E_m je deskriptor E stacionární fáze a mobilní fáze. Protože člen eE slouží jako doplňkový příspěvek k polárním interakcím a polarizovatelnosti solutu, bývá interpretace koeficientu e složitější v porovnání s ostatními regresními koeficienty.

Koeficient s

Znázorňuje schopnost stacionární a mobilní fáze interagovat s analytem pomocí polárních vazeb typu dipól-dipól. K popisu vlastností fází je použito solvatochromního parametru π^* , vhodného k charakterizaci rozpouštědel. V kapalinové chromatografii s nabývá záporných hodnot vlivem polárnější mobilní fáze.

$$s = k_s(\pi_s^* - \pi_m^*) \quad (1.1.7.17)$$

Rovnice (1.1.7.17) označuje k_e jako konstantu, π_s^* a π_m^* je deskriptor π^* stacionární a mobilní fáze.

Koeficient a

Vyjadřuje schopnost stacionární a mobilní fáze vytvářet vodíkové vazby s analytem, kde fáze je akceptor vodíkového protonu a analyt donor. Vlastnosti stacionární a mobilní fáze jsou popsány solvatochromními deskriptory bazicity β_s a β_m , které jsou komplementární k solvatačnímu deskriptoru acidity solutu A .

$$a = k_a(\beta_s - \beta_m) \quad (1.1.7.18)$$

V rovnici (1.1.7.18) k_a označuje konstantu. V RPLC je koeficient a zpravidla záporný v důsledku větší hodnoty bazicity mobilní fáze.

Koeficient b

Popisuje schopnost stacionární a mobilní fáze utvářet vodíkové vazby s analytem. Obě fáze zde vystupují v roli donoru vodíkového protonu a analyt akceptoru. Analogicky jako u předchozího koeficientu, b je definován solvatochromním deskriptorem acidity α , který je komplementární k solvatačnímu deskriptoru bazicity solutu B .

$$b = k_b(\alpha_s - \alpha_m) \quad (1.1.7.19)$$

Rovnice (1.1.7.19) označuje k_b jako konstantu, α_s a α_m je deskriptor acidity stacionární a mobilní fáze.

Koeficient I

Pro popis schopnosti stacionární fáze vytvářet disperzní a kavitační interakce v plynové chromatografii je používán koeficient I . Je odvozen od deskriptoru L , tedy logaritmu rozdělovacího koeficientu mezi plyn a hexadekan ($\log L^{16}$).

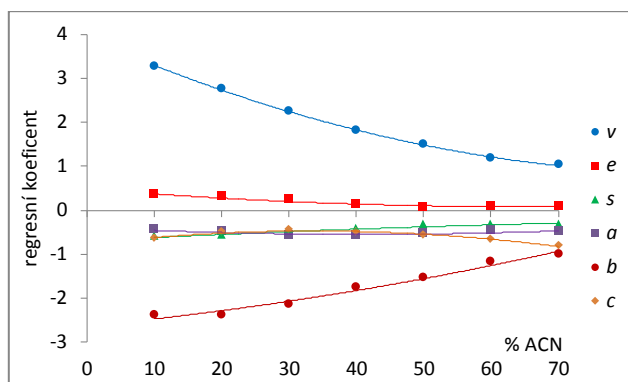
Konstanta c

Poslední člen solvatační rovnice není přiřazen žádné specifické interakci, je nezávislý na vlastnostech analytu. Zahrnuje poměr objemů stacionární a mobilní fáze V_s/V_m (kap. 1.1.1). Obsahuje rovněž určité kompenzace spojené s nastavením empirických stupnic deskriptorů. Může nabývat hodnot převyšujících ostatní příspěvky, bývá závislý na složení mobilní fáze i na teplotě. Konstanta c zatím není více objasněna i přestože obsahuje nezanedbatelnou chemickou informaci.

Závislost regresních koeficientů na složení mobilní fáze

V kapalinové chromatografii lze změnu retence analytů dosáhnout nejlépe změnou složení mobilní fáze. Regresní koeficienty zde přímo odráží uvedenou změnu, neboť jsou charakterizovány jako rozdíl specifické vlastnosti stacionární a mobilní fáze. S jejich pomocí lze posuzovat velikost jednotlivých interakcí podle zvolené mobilní fáze [73-77]. Stacionární fáze v RPLC tvoří komplexní heterogenní systém nosiče s navázanou reverzní fází, která je solvatovaná složkami mobilní fáze. Stupeň smáčení jednotlivých částí stacionární fáze závisí na poměru vody a organického rozpouštědla mobilní fáze. Změna složení mobilní fáze se rovněž projeví ve změně vlastností stacionární fáze. Přestože solvatochromní parametry (π^* , α , β) nabývají v podstatě nulových hodnot pro samotný materiál stacionární fáze (alkylové řetězce), její polarita podstatně vzroste po smáčení složkami mobilní fáze.

V následujícím grafu (obr. 1) je znázorněn typický průběh měřených závislostí regresních koeficientů na složení mobilní fáze acetonitril-voda v RPLC [12].



Obr. 1

Závislost regresních koeficientů v , e , s , a , b , c na objemových procentech acetonitrilu v mobilní fázi acetonitril-voda pro kapalinovou chromatografii na stacionární fázi Chromolith RP-18e [78]

Tabulka 1

Hodnoty solvatochromních a solvatačních parametrů rozpouštědel běžně používaných v RPLC jako složky mobilní fáze. Označení parametrů: δ^2 Hildebrandův parametr rozpustnosti (v jednotkách cal/cm^3), π^* parametr dipolarity/polarizovatelnosti, α parametr acidity vodíkové vazby, β parametr bazicity vodíkové vazby (viz. kapitola 1.1.6) [1]

Solvent	δ^2	E	π^*	α	β
Voda	554	0,000	1,09	1,17	0,48
Acetonitril	147	0,237	0,75	0,19	0,31
Methanol	210	0,278	0,60	0,93	0,66

V tabulce 1 jsou uvedeny solvatochromní a solvatační deskriptory rozpouštědel, běžně používaných v HPLC. Průběh závislostí regresních koeficientů na složení mobilní fáze (obr. 1) lze interpretovat na základě hodnot parametrů acetonitrilu a vody v tabulce 1 dosazených do rovnic (1.1.7.15) až (1.1.7.19), definujících regresní koeficienty. Například koeficient v nabývá nejvyšších hodnot v prostředí mobilní fáze s nadbytkem vody (10 % ACN) a poté klesá s přibývajícím obsahem acetonitrilu. Koeficient v je určen

rozdílem ($\delta_m^2 - \delta_s^2$), kde δ_m^2 je podstatně větší, než δ_s^2 . Voda má vyšší hodnotu δ_m^2 (554 cal/cm³) než acetonitril (147 cal/cm³), proto v klesá s rostoucím množstvím acetonitrilu. Koeficient b nabývá nejnižších hodnot v prostředí mobilní fáze bohatém na vodu (10 % ACN) a následně roste s množstvím acetonitrilu v mobilní fázi. Definice b je dána rozdílem ($\alpha_s - \alpha_m$), neboť α_s je menší v porovnání s α_m , vykazuje koeficient b záporné hodnoty. Acidita α_m vody (1,17) je podstatně větší než α_m acetonitrilu (0,19), proto s přibývajícím obsahem acetonitrilu se rozdíl ($\alpha_s - \alpha_m$) zmenšuje a koeficient b vzrůstá.

Solvatochromní a solvatační parametry stacionárních fází jsou obtížně zjistitelné, vzhledem k složité povaze její struktury a složení.

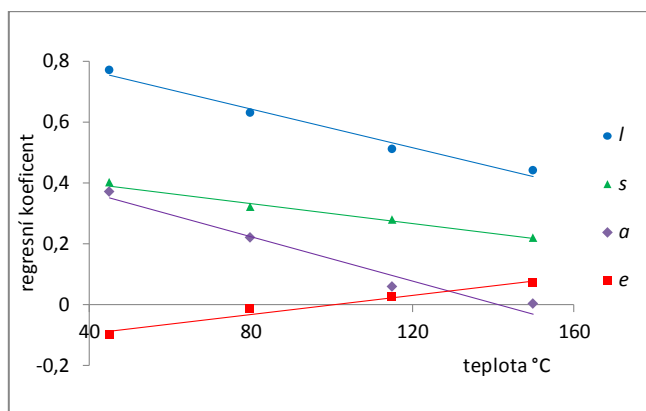
Závislost regresních koeficientů na teplotě kolony

Regresní koeficienty odráží vliv teploty na separaci analytů. V plynové chromatografii je zpravidla optimalizace podmínek separace na dané koloně prováděna změnou teploty. Rovněž v kapalinové chromatografii lze v omezeném rozsahu optimalizovat separaci látek změnou teploty v systému. Vztah retenčního faktoru (k) a teploty je vyjádřen rovnicí [1]:

$$\ln k = \frac{-\Delta H^0}{RT} + \frac{\Delta S^0}{R} - \ln \Phi = A + \frac{B}{T} \quad (1.1.7.20)$$

V rovnici (1.1.7.20) je ΔH^0 změna entalpie, ΔS^0 změna entropie, R univerzální plynová konstanta, T termodynamická teplota, Φ poměr objemů stacionární a mobilní fáze a A , B konstanty nezávislé na teplotě.

V plynové a kapalinové chromatografii retence látek zpravidla klesá se vzrůstající teplotou, jak je zřejmé z rovnice (1.1.7.20). V grafu (obr. 2) je znázorněna závislost regresních koeficientů na teplotě v plynové chromatografii.



Obr. 2

Závislost regresních koeficientů l , s , a , e na teplotě v plynové chromatografii pro stacionární fázi Polydimethylsiloxan (DB-1) [79]. Koeficient b je nulový, konstanta c zde není zobrazena

Interpretace závislosti regresních koeficientů na teplotě v plynové chromatografii je jednodušší, koeficienty přímo popisují vlastnost stacionární fáze. Na základě grafu (obr. 2) je zřejmý pokles hodnot regresních koeficientů (s výjimkou e) podle rostoucí teploty a tedy i pokles retence analytů, jak odpovídá rovnici (1.1.7.20).

Charakterizace stacionárních fází

Abrahamova solvatační rovnice je používána také pro popis vlastností a selektivity stacionárních fází, na základě hodnot regresních koeficientů. LSER model dovede znázornit a vyhodnotit rozdíly v jednotlivých interakcích, které se podílejí na separaci analytů. Regresní koeficienty pro porovnávání fází by měly být získány za stejných experimentálních podmínek pro jednotlivé kolony, týká se to převážně složení mobilní fáze a teploty.

K popisu stacionárních fází lze použít přímo hodnot regresních koeficientů. V případě srovnávání rozdílných typů kolon s různým rozsahem hodnot koeficientů, se používá standardizovaných koeficientů vztažených k hlavnímu koeficientu v , tedy poměrů e/v , s/v , a/v , b/v .

Pro obecné porovnání stacionárních fází lze použít matematické metody odvozené od Eukleidovského prostoru [80-83]. Regresní koeficienty jsou normalizovány podle délky Eukleidovského vektoru (u):

$$u = \sqrt{v^2 + e^2 + s^2 + a^2 + b^2} \quad (1.1.7.21)$$

V rovnici (1.1.7.21) je u délka Eukleidovského vektoru a symboly pod odmocninou označují regresní koeficienty. Poté normalizované hodnoty koeficientů jsou dány poměry v/u , e/u , s/u , a/u , b/u . Porovnání stacionárních fází pomocí normalizovaných hodnot koeficientů lze znázornit graficky vynesáním hodnot do paprskového grafu (radar plot, plot diagram, spider diagram). Pro efektivní rozlišení zón dvou analytů by měla být použita taková stacionární fáze, která má významně odlišné alespoň 2 regresní koeficienty v porovnání s původní fází [12].

Srovnání podobnosti dvou fází podle jediné hodnoty lze provést pomocí Eukleidovské vzdálenosti, nazývané také Abrahamův D -parametr:

$$D = \sqrt{(v_1 - v_2)^2 + (e_1 - e_2)^2 + (s_1 - s_2)^2 + (a_1 - a_2)^2 + (b_1 - b_2)^2} \quad (1.1.7.22)$$

Dolní index (1) a (2) označuje dva druhy stacionárních fází. Dvě stacionární fáze jsou považovány za podobné v případě nízké hodnoty D -parametru ($D = 0,5$ až $0,8$).

Charakterizace stacionárních fází Abrahamovým solvatačním modelem byla provedena na celé řadě kolon v plynové chromatografii [79,84-87], kapalinové chromatografii na reverzních fázích [72,77,64,88,91-93] a normálních fázích [94,95], stejně jako v superkritické fluidní chromatografii [96].

V porovnání s některými metodami používanými k charakterizaci stacionárních fází, Abrahamův solvatační model nebývá tak přesný v predikci retence [1] jako např. Hydrophobic subtraction model (kap. 1.1.10). Na druhou stranu, metody zaměřené pro charakterizaci stacionárních fází zpravidla nedovedou zhodnotit zastoupení a význam jednotlivých interakcí z obecného hlediska retenčního děje, tak jako solvatační model.

1.1.7.4 Omezení a nedostatky solvatačního modelu

Abrahamův solvatační model je používán k charakterizaci chromatografické retence a rozdělovací rovnováhy, s různou přesností popisu podle konkrétního experimentu a použité metody. V této části je uveden souhrn omezení a nedostatků, zaznamenaných během více než 20 let aplikace modelu v rozmanitých technikách [1,12].

Abrahamův solvatační model používá deskriptory solutu, vycházející ze solvatochromních parametrů, které jsou spojeny se změnou energie spektroskopických efektů. Přímý lineární vztah těchto deskriptorů k solvatačnímu ději proto není fyzikálně prokázaný. Nicméně model se ukazuje jako empiricky platný, na základě mnohačetných experimentálních ověření.

Z termodynamického pohledu, jednotlivé členy solvatační rovnice nejsou rozděleny zvláště na příspěvek entalpie a entropie, jak plyne z definice Gibbsovy energie. Obě tyto složky jsou v solvatačním modelu spojeny dohromady.

Sterické efekty odvozené od tvaru molekul nejsou dostatečně zahrnuty. Popis separace chirálních sloučenin a izomerů není vyhovující, rozdělení analytů podle tvaru molekuly (shape selectivity) model nedovede znázornit.

Deskriptor V zahrnuje pouze objem molekuly, pro detailní popis kavitačních a disperzních dějů je vhodné začlenit také plochu molekuly nebo poměr objemu a plochy. Solvatační model nepočítá se vztahem mezi geometrií interakcí a energií interakcí.

Některé specifické solvatační děje nejsou popsány, například interakce slabých Lewisovských kyselin a bazí nebo tvorba komplexů mezi solutem a kovem na zirkonových RPLC stacionárních fázích.

Chybí popis mikroskopické heterogenní struktury solventu, zejména tvorba klastrů molekulami rozpouštědla nebo formování povrchově aktivních látek do tvaru micel.

Také není zahrnuta selektivní solvatace solutu vlivem směsi různých solventů, stejně jako specifické solvatační efekty na heterogenní RPLC stacionární fázi s volnými silanolovými skupinami. Uvedené skutečnosti mohou přispívat k odchylkám hodnot regresních koeficientů při MLR analýze.

Polarizovatelnost není definována jedním specifickým parametrem, její vliv je v podstatě rozložen do tří deskriptorů: E , S a V (příp. L). Tato nepřesnost také bývá důvodem korelací (kolinearity) mezi zmíněnými deskriptory.

Obsah příspěvku konstantního členu c není zcela objasněn, jak bylo uvedeno na konci kapitoly 1.1.7.3.

Predikce retence analytů LSER modelem není dostatečně přesná, aby mohla být použita k optimalizaci selektivity separace. Ostatní metody založené na korelaci specifických parametrů se studovaným dějem (QSRR), mohou poskytnout přesnější predikci, ale zpravidla neumožňují celkově objasnit jednotlivé interakce vedoucí k retenci.

1.1.7.5 Možnosti a využití solvatačního modelu

Abrahamův solvatační model jako forma LSER je určen k popisu rozdělovací rovnováhy solutu mezi dvě fáze. Jednou z hlavních výhod je znázornění a porovnání jednotlivých interakcí podle probíhajících chemických dějů, na základě příspěvků solutu a solventu k danému efektu. Dále umožňuje interpretaci studovaných procesů podle velikosti konkrétních členů v rovnici. Ve srovnání s ostatními přístupy je velmi obecný, solvatační deskriptory stejně jako solvatochromní parametry Kamlet-Taftova modelu dovedou popsat širokou oblast dějů, na rozdíl od ostatních modelů, které mají více specifické zaměření. Vzhledem k déle jak 20 leté existenci, Abrahamův solvatační model disponuje bohatou databází výsledků a experimentálních dat, použitelných k dalším studiím.

Abrahamův solvatační model popisuje retenci látek v rozmanitých chromatografických technikách. Model je možno použít pro plynovou chromatografii

[12,84,97] na kapilárních a náplňových kolonách, dále v kapalinové chromatografii s reverzními [98] i normálními [99,100] fázemi včetně adsorbční chromatografie.

Dalšími chromatografickými aplikacemi jsou superkritická fluidní chromatografie (SFC) [96] nebo popis sorpce při extrakci tuhou fází (SPE) [101] a mikroextrakci tuhou fází (SPME) [102-104], nachází rovněž uplatnění u micelární elektrokinetické chromatografie (MEKC)[105,106].

Významné je použití solvatačního modelu k popisu rozdělovacího koeficientu oktanol-voda (P_{ow})[107] a dalších systémů kapalina-kapalina [108-110]. Byl použit pro studium rovnováhy plyn-kapalina [60,111,112], stejně jako pro odhad rozpustnosti látek ve vodě a v organických rozpouštědlech [113-115]. Zajímavou aplikací modelu je popis sorpčních vlastností půdy, [116-118] při rozdělování látek v systému voda-půda a plyn-půda.

Solvatační model se také rozšířil k charakterizaci rozdělovací rovnováhy v oblasti biologických oborů (biopartitioning), například k modelování retence v chromatografii s navázanými imobilizovanými umělými membránami (IAM), která napodobuje průchod látek přes buněčné membrány [119,120].

Byl použit k popisu rozdělování látek v systémech krev-mozková tkáň, krev-biologická tkáň, vzduch-krev nebo vstřebávání sloučenin pokožkou či trávicím traktem [121-124]. Další aplikací je odhad narkotické koncentrace těžkých látek [125], nebo korelace mezi smyslovou odezvou a chemickými vlastnostmi látek u živých organismů [126].

Pozn.: Experimentální část této práce (kap. 2) je zaměřena na studium retence látek Abrahamovým solvatačním modelem. Pro snazší přehlednost v textu je tento model uváděn pod pojmení LSER model.

1.1.8 Globální LSER model

Pod pojmem globální LSER je uváděno rozšíření Abrahamova solvatačního modelu pro použití v kapalinové chromatografii s libovolným složením mobilní fáze [127,128]. Záměrem je sestavit LSER model, který na dané stacionární fázi dovede popsat retenci látek v celém rozmezí složení mobilní fáze pomocí malého počtu parametrů. V solvatační rovnici (rovnice 1.1.7.1) jsou vlastnosti stacionární a mobilní fáze určeny regresními koeficienty. Při každé změně složení mobilní fáze je nutno znovu určit nové regresní koeficienty. Tento krok vyžaduje nové experimentální hodnoty retence látek v dané mobilní fázi, nutné pro výpočet koeficientů solvatační rovnice metodou MLRA.

Při znalosti vztahu definujícího závislost regresních koeficientů na složení mobilní fáze o dvou daných složkách (voda a organické rozpouštědlo), kde se mění jejich vzájemný poměr, je možné jednoduše určit hodnotu těchto parametrů pro libovolné složení mobilní fáze. Takový model je nazýván globální LSER. Kombinuje použití vztahů LSST (kap. 1.1.2) a LSER (kap. 1.1.7) do jedné rovnice. V této souvislosti je zaveden pojem lokální LSER, což označuje původní solvatační model (rovnice 1.1.7.1) popisující retenci látek v jednom daném složení mobilní fáze.

LSST předpokládá lineární závislost logaritmu retenčního faktoru na zlomku organického rozpouštědla v mobilní fázi popsanou rovnicí (1.1.2.1). Oba parametry $\log k_w$ a S mají rozměr volné energie, stejně jako jednotlivé členy solvatační rovnice (1.1.7.1). Lze proto vyjádřit:

$$\log k_w = v_w V + e_w E + s_w S + a_w A + b_w B + c_w \quad (1.1.8.1)$$

$$S = v_s V + e_s E + s_s S + a_s A + b_s B + c_s \quad (1.1.8.2)$$

$$\log k = \log k_w - S\phi = (v_w V + e_w E + s_w S + a_w A + b_w B + c_w) - (v_s V + e_s E + s_s S + a_s A + b_s B + c_s)\phi \quad (1.1.8.3)$$

Vztah lze matematicky upravit vytknutím deskriptorů, kde výrazy v závorce odpovídají regresním koeficientům:

$$\log k = (v_w - v_s\phi)V + (e_w - e_s\phi)E + (s_w - s_s\phi)S + (a_w - a_s\phi)A + \\ + (b_w - b_s\phi)B + c_w - c_s\phi \quad (1.1.8.4)$$

Potom jednotlivé regresní koeficienty jsou definovány:

$$v = v_w - v_s\phi \quad (1.1.8.5)$$

$$e = e_w - e_s\phi \quad (1.1.8.6)$$

$$s = s_w - s_s\phi \quad (1.1.8.7)$$

$$a = a_w - a_s\phi \quad (1.1.8.8)$$

$$b = b_w - b_s\phi \quad (1.1.8.9)$$

$$c = c_w - c_s\phi \quad (1.1.8.10)$$

Stačí tedy pouze 12 parametrů pro určení regresních koeficientů, umožňujících kompletní popis retence LSER rovnicí v libovolném složení mobilní fáze (ϕ) o dvou daných složkách. K tomu je třeba experimentálních hodnot retence alespoň 6 látek ve dvou (krajních) mobilních fázích, aby bylo možno určit 2 parametry ($\log k_w$ a S) pro každý regresní koeficient. Zpravidla se doporučuje počet 3 až 4 analytů připadajících na jeden regresní koeficient.

Globální LSER vykazuje určitá omezení. V uvedeném lineárním provedení je model limitován pouze na úzký rozsah složení mobilní fáze [1,12], jak vyplývá z charakteru LSST rovnice (omezení zmíněná v kap. 1.1.2)

Závislost regresních koeficientů na složení mobilní fáze bývá často kvadratická, proto aproximace lineární závislosti přináší odchylky v porovnání s individuálně určeným solvatačním modelem (lokální LSER). Rozšíření na kvadratickou závislost LSST modelu [128] zvyšuje použitelnost, ale vyžaduje více parametrů (18 místo původních 12). Globální LSER kvadratické formy je platný v širokém rozmezí složení mobilní fáze a dosahuje kvalitu predikce retence srovnatelnou s individuálně formulovaným LSER modelem (lokální LSER).

1.1.9 Teoretický LSER model (TLSER)

Tento přístup byl vyvinut skupinou Famini, Wilson a kol [129-131] jako alternativa k Abrahamovu solvatačnímu modelu (LSER), pro popis interakcí solut-solvent založený více na fyzikální bázi. TLSER je odvozen od LSER rovnice, kde solvatační deskriptory na empirické bázi jsou nahrazeny kvantově-chemickými deskriptory vypočtenými z vlastností molekulárních orbitalů:

$$\log P = aV_{mv} + b\pi_1 + c\varepsilon_B + dq_- + e\varepsilon_A + fq_+ + g \quad (1.1.9.1)$$

P	studovaná vlastnost solutu nebo solventu
V_{mv}	Hopfingerův molekulární objem (solventu)
π_1	deskriptor polarizovatelnosti solutu (solventu)
ε_B	kovalentní bazicita solutu (solventu)
q_-	elektrostatická bazicita solutu (solventu)
ε_A	kovalentní acidita solutu (solventu)
q_+	elektrostatická acidita solutu (solventu)
g	konstantní člen

Rovnice (1.1.9.1) popisuje interakce solut-solvent jako součet nezávislých členů, zastupujících konkrétní solvatační děje, podobně jako LSER model. Studovaná vlastnost P může být vztažena jak k solutu, tak i k solventu. Deskriptory solutu příp. solventu jsou representovány parametry V_{mv} , π_1 , ε_B , q_- , ε_A , q_+ . Regresní koeficienty a , b , c , d , e , f , g mají stejný vztah k deskriptorům, jako v případě solvatačního modelu.

V_{mv} popisuje kavitační děje solvatace, je úměrný kohezivní energii vyjadřované Hildebrandovým parametrem rozpustnosti. Deskriptor polarizovatelnosti π_1 je odvozen z poměru molekulárně polarizovatelného objemu děleným molekulárním objemem. Vyjadřuje schopnost přesunu elektronového oblaku uvnitř molekuly a její polarizovatelnost. Kovalentní bazicita je vypočtena z energie HOMO orbitalu solutu vztaženého k LUMO orbitalu vody. S rostoucí hodnotou ε_B se zvyšuje schopnost solutu interagovat s vodou. Kovalentní acidita ε_A je definována podobně, ale LUMO orbital

solutu je vztažen k HOMO orbitalu vody. Kovalentní acidita a bazicita jsou založeny na Lewisovské teorii kyselin a zásad [28]. Elektrostatická bazicita solutu q_- je popisována jako absolutní hodnota nejvíce negativního formálního náboje atomu v molekule solutu. Elektrostatická acidita solutu q_+ je hodnota nejvíce pozitivního formálního náboje atomu v molekule solutu.

TLSER by měl odstranit určité nedostatky Abrahamova solvatačního modelu, pramenící z jeho empirického založení. Platnost LSER bývá zpravidla omezena na určitou oblast dat, ve které byl model konstruován. Použití LSER mimo tuto oblast dat nemusí být spolehlivé. Empirický solvatační model je převážně určen k interpolaci, odhady získané extrapolací jsou zpravidla zatíženy větší chybou.

Zde jsou shrnuty hlavní výhody TLSER, uváděné autory tohoto modelu [129]. Mezi TLSER deskriptory nedochází ke vzájemným korelacím, jednotlivé parametry jsou na sobě nezávislé. Deskriptory popisují "čistou vlastnost" dané molekuly, která se nepřekrývá s jinými vlastnostmi molekuly, znázorněnými ostatními deskriptory. TLSER deskriptory jsou vypočtené pro molekuly v plynné fázi oddělené od ostatních. Nerozlišují mezi solutem a solventem, daná sloučenina má stejné deskriptory bez ohledu, jestli je v pozici solutu nebo solventu. Parametry TLSER jsou snadno spočítatelné z kvantově-chemických dat molekulárních orbitalů.

Na základě práce srovnávající modely LSER a TLSER [132] se ukázaly určité nedostatky v TLSER přístupu, převážně pramenící z charakteristiky látek v plynném stavu, kde nejsou zahrnuty struktury (klastry) molekul, ale pouze izolované částice. Členy popisující kovalentní aciditu ε_A a basicitu ε_B neprokázaly větší význam. Polarita solutu není úplně postihnuta v TLSER modelu. Deskriptory Elektrostatické acidity a basicity pokrývají velkou část interakcí, ale i zde jsou určité mezery v popisu, patrně pocházející z aproximace molekul pouze v plynné fázi.

1.1.10 Hydrophobic subtraction model (HSM)

Tento model pro popis selektivity stacionárních fází a jejich charakteristiku v RPLC se rovněž řadí mezi LSER přístupy. Byl vyvíjen skupinou L. R. Snyder, J.W. Dolan a kol. od roku 1998 a představen v roce 2002 [133]. HSM vyjadřuje selektivitu separace (α) dané látky a standardu, popsanou součtem pěti členů, které zastupují jednotlivé interakce. Od retence analytu je odečten hydrofobní příspěvek pomocí referenčního standardu, což umožní lépe popsat vliv ostatních efektů [133,134]:

$$\log \alpha \equiv \log \left(\frac{k}{k_{EB}} \right) = \eta' H - \sigma' S^* + \beta' A + \alpha' B + \kappa' C \quad (1.1.10.1)$$

α selektivita separace (separační faktor),

k retenční faktor analytu,

k_{EB} retenční faktor standardu (ethylbenzen) zastupujícího hydrofobní příspěvek,

$\eta' H$ člen vyjadřující hydrofobní interakce,

$\sigma' S^*$ člen zahrnující sterickou rezistenci přechodu solutu do stacionární fáze,

$\beta' A$ člen popisující interakce vodíkové vazby se stacionární fází, která vystupuje jako kyselina (donor vodíkové vazby),

$\alpha' B$ člen popisující interakce vodíkové vazby se stacionární fází, která vystupuje jako báze (akceptor vodíkové vazby),

$\kappa' C$ člen odpovídající ději spojeném s výměnou kationtů mezi solutem a stacionární fází.

Jednotlivé členy v rovnici (1.1.10.1) jsou charakterizovány parametry stacionární fáze (H, S^*, A, B, C) a parametry solutu ($\eta', \sigma', \beta', \alpha', \kappa'$), které v sobě zahrnují i vlastnosti mobilní fáze a teploty. Ve srovnání s LSER modelem (kap. 1.1.7), je zde opačný způsob popisu retenčních charakteristik v rovnici. Stacionární fáze je definovaná deskriptory, které jsou nezávislé na ostatních podmínkách separace. Vlastnosti solutu, mobilní fáze a ostatních separačních podmínek jsou zahrnuty

v koeficientech. Interakce vyjádřené rovnicí (1.1.10.1) jsou v souladu s popisem retence pomocí modelu LSER.

Tento vztah (1.1.10.1) platí za standardních podmínek, pro které byl odvozen: mobilní fáze 50 % acetonitril/fosfátový pufr o složení 60mM hydrogenfosforečnanu draselného, pH = 2,8; teplota 35°C a průtoková rychlost v koloně 2mL/min.

Význam jednotlivých parametrů stacionární fáze je následující: H popisuje hydrofobicitu, která nejvíce přispívá k retenci analytu v RPLC. S^* znázorňuje sterickou rezistenci stacionární fáze vůči solutu. Odpovídající člen v rovnici (1.1.10.1) má záporné znaménko, tedy s rostoucí hodnotou S^* dochází k poklesu retence. Rezistenci stacionární fáze zvyšuje například hustota navázaného ligandu, jeho délka či malá velikost pórů. Sterická rezistence je interpretována jako entropický příspěvek. A charakterizuje aciditu stacionární fáze, která bývá ovlivněna například neionizovanými silanolovými skupinami (-Si-OH). Endcapping těchto volných skupin může významně snížit hodnotu A . Parametr bazicity B je rovněž ovlivněn přítomností silanolových skupin, dalším faktorem způsobujícím růst bazicity je přítomnost vody sorbované v stacionární fázi. V tomto případě může docházet k nepřímé závislosti s hydrofobicitou, projevující se zápornou korelací mezi B a H . Iontové interakce a výměna iontů stacionární fáze je vyjádřena parametrem C . Významnou roli zde hrají záporně nabitě siloxanové skupiny (-Si-O⁻), jako důsledek disociace silanolových skupin. C je jediný parametr, který je ovlivněn pH mobilní fáze.

H , S^* , A , B , C jsou vztaženy k standardní stacionární fázi uváděné jako "hypotetická kolona průměrného typu-B pure silica C-18" [134,135]. Každá stacionární fáze se stejnými charakteristikami jako popsaná standardní fáze má hodnoty $H = 1$ a S^* , A , B , $C = 0$. Ostatní parametry rovnice (η' , σ' , β' , α' , κ') jsou komplementární vlastnosti solutu, mobilní fáze a teploty. Jsou vztaženy k hodnotám standardu ethylbenzenu, který má všechny parametry nulové.

HSM popisuje efekty, které nejsou dostatečně zohledněné v LSER modelu. Jedná se zejména o sterické vlivy, interakce podle tvaru molekuly (shape selectivity), výměna kationtů, iontové interakce, komplexační reakce (π - π). HSM by měl zahrnout uvedené interakce, které nejsou znázorněné solvatačním modelem. LSER přístup je více zaměřen na obecnost popisu retence v GC, HPLC a rozdělování látek mezi dvě fáze. Na

druhou stranu HSM je speciálně určen pro detailní popis separace v HPLC a charakterizaci stacionárních fází, rovněž používá více empirických parametrů ve srovnání se solvatačním modelem.

Hodnoty H , S^* , A , B , C jsou známy pro více než 500 typů stacionárních fází [136] a parametry solutů pro minimálně 150 testovacích látek. HSM rovnice dovede predikovat hodnotu α s průměrnou přesností 1 až 3 %. Tento odhad vychází z více jak 7000 experimentálních měření selektivity α [134].

HSM je určen převážně k charakterizaci stacionárních fází. Jeho použití je spojeno s volbou “ekvivalentní” stacionární fáze, která má podobné vlastnosti (selektivitu), jako studovaná. Další uplatnění je pro volbu kolony s naopak velmi rozdílnou selektivitou, jež nachází aplikaci u ortogonálních separací [136].

Předpokládá se, že HSM rovnice bude s přibývajícími druhy měřených testovacích látek ukazovat určité odchylky. Jednotlivé členy HSM rovnice (H , S , A , B , C) by měly být vzájemně nezávislé, nicméně ukazuje se existence korelací mezi některými parametry. Kaliszan a kol uvádí podle práce [137], že model HSM nenabízí významnější zlepšení charakterizace stacionárních fází v porovnání s ostatními běžně používanými metodami. HSM patří v současnosti mezi velmi vyhledávané přístupy k popisu vlastností stacionárních fází a jejich selektivity. Rovnice (1.1.10.1) poskytuje velmi přesnou predikci retence analytů v kapalinové chromatografii [138], ovšem v rozmezí uvedených standardních podmínek.

1.2 Vícenásobný lineární regresní model

Tato kapitola se zabývá formou LSER rovnice z hlediska chemometrie. Matematické vyjádření vztahu mezi retencí analytu a jeho fyzikálně-chemickými parametry (deskriptory) v LSER modelu je postaveno na vícenásobném lineárním regresním modelu. Lineární regresní model bývá jedním z nejpoužívanějších vztahů pro popis retence, ať už jako jednoduchý nebo vícenásobný model.

V experimentální části této práce jsou používány charakteristiky vícenásobné lineární regrese (MLR) pro popis a hodnocení LSER modelu. Tato kapitola není

kompletním chemometrickým popisem MLR, zabývá se převážně tematikou a postupy uvedenými ve výsledcích experimentální části.

1.2.1 Vícenásobná lineární regrese

Vícenásobná lineární regrese (Multiple linear regression, MLR, MLRA) je statistická metoda [139] k nalezení vztahu mezi závisle proměnnou (vysvětlovanou) veličinou y a dvěma a více nezávisle proměnnými (vysvětlujícími) veličinami x . Výsledkem je vícenásobný lineární regresní model vyjádřený rovnicí (1.2.1.1). Vyznačuje se lineárním postavením regresních parametrů (koeficientů) b .

$$y_i = b_0 + b_1x_{1,i} + b_2x_{2,i} + b_mx_{m,i} + \varepsilon_i \quad (1.2.1.1)$$

y	závisle proměnná veličina,
x_1, x_2, x_m	jednotlivé nezávisle proměnné veličiny,
b_1, b_2, b_m	regresní koeficienty,
b_0	konstantní člen,
ε_i	chyba modelu,
m	počet nezávisle proměnných veličin,
i	počet hodnot závisle proměnné y (počet párů hodnot y a x_1 až x_m).

MLR je zpravidla vyhodnocována pomocí výpočetní techniky. Vstupními hodnotami jsou závisle proměnná veličina y a nezávisle proměnné veličiny x_1 až x_m pro každou měřenou hodnotu i z celkového počtu n . Výsledkem regresní analýzy jsou regresní koeficienty b_1 až b_m , konstanta b_0 a jejich směrodatné odchylky odhadu $SE(b)$. Dále MLR poskytuje regresní charakteristiky výsledné rovnice (1.2.1.1) včetně analýzy rozptylu (ANOVA). Počet regresních parametrů p v rovnici (1.2.1.1) se zahrnutou konstantou b_0 odpovídá $p = m+1$. Následně jsou uvedeny regresní charakteristiky MLR:

TSS je celkový (totální) součet čtverců (total sum of squares), se stupni volnosti $(n-1)$. Popisuje celkovou variabilitu závisle proměnné, tedy rozsah proměnlivosti hodnot y . Je definován podle rovnice (1.2.1.2):

$$TSS = \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2 \quad (1.2.1.2)$$

MSS je regresní součet čtverců (model sum of squares, regression sum of squares), se stupni volnosti $(p-1)$. Vyjadřuje takovou část variability závisle proměnné y , která je popsána daným regresním modelem. Definici MSS udává rovnice (1.2.1.3):

$$MSS = \sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2 \quad (1.2.1.3)$$

RSS je reziduální součet čtverců (residual sum of squares) se stupni volnosti $(n-p)$. Vyjadřuje zbývající část variability proměnné y , která není modelem popsána. Výraz $(y_i - \hat{y}_i)$ je definován jako reziduum ($\hat{\epsilon}_i$), tedy rozdíl mezi naměřenou a vypočtenou hodnotou y . RSS je znázorněn rovnicí (1.2.1.4):

$$RSS = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2 \quad (1.2.1.4)$$

V rovnicích (1.2.1.2) až (1.2.1.4) je y_i měřená (experimentální) hodnota závisle proměnné, \bar{y} je průměrná hodnota všech hodnot závisle proměnné a \hat{y}_i je vypočtená hodnota závisle proměnné y_i regresním modelem (rovnici (1.2.1.1)). Mezi jednotlivými součty čtverců platí vztah (1.2.1.5):

$$TSS = MSS + RSS \quad (1.2.1.5)$$

Koeficient determinace R^2 je určen:

$$R^2 = \frac{MSS}{TSS} = 1 - \frac{RSS}{TSS} \quad (1.2.1.6)$$

Koeficient determinace udává, jak velkou část experimentálních dat (y) dovede daný regresní model popsat (vysvětlit) vzhledem k celkové proměnné y . V podobě R je označován jako koeficient mnohonásobné korelace. Nabývá hodnot v rozmezí 0 až 1. Směrodatná odchylka závisle proměnné y , $SE(y)$ nebo také reziduální směrodatná odchylka, je definována rovnicí (1.2.1.7):

$$SE(y) = \sqrt{\frac{RSS}{n-p}} \quad (1.2.1.7)$$

Fisherova F -statistika MLR (1.2.1.8) vyjadřuje vhodnost navrženého regresního modelu, vzhledem k počtu regresních parametrů p a celkovému počtu hodnot n . Podíl MSS/RSS určuje, kolikrát je popsaná (vysvětlená) část proměnné y větší, než nepopsaná (reziduální) část. F -hodnota na rozdíl od koeficientu determinace R^2 zohledňuje počet proměnných v modelu.

$$F = \frac{MSS}{RSS} \cdot \frac{n-p}{p-1} = \frac{R^2}{1-R^2} \cdot \frac{n-p}{p-1} \quad (1.2.1.8)$$

Korigovaný koeficient determinace R_{adj}^2 poskytuje lepší odhad o schopnosti popisu regresního modelu, než obyčejný koeficient determinace. Je definován podle vztahu (1.2.1.9):

$$R_{adj}^2 = \frac{MSS}{TSS} \cdot \frac{n-1}{p-1} = 1 - \frac{RSS}{TSS} \cdot \frac{n-1}{n-p} = 1 - \left[(1-R^2) \left(\frac{n-1}{n-p} \right) \right] \quad (1.2.1.9)$$

R_{adj}^2 lze použít k porovnávání modelů s rozdílným počtem hodnot (n) a proměnných (m).

1.2.2 Podmínky platnosti regresního modelu

Níže uvedené podmínky musí model splňovat, aby byl statisticky významný (platný) [139,140].

- lineární závislost mezi závisle proměnnou y a nezávisle proměnnými x_1 až x_m ,
- nezávislost proměnných x_1 až x_m mezi sebou,
- rezidua modelu:
 - jsou nezávislá na jednotlivých proměnných x , měřené veličině y_i a na vypočtené hodnotě \hat{y}_i ,
 - jsou náhodná,
 - mají konstantní velikost rozptylu,
 - vykazují normální rozdělení.

Testy předpokladů platnosti modelu

K ověření podmínek platnosti modelu jsou používány následující metody:

- F -test významnosti celkového modelu (Fisherova F -statistika),
- t -test významnosti jednotlivých regresních koeficientů,
- test nezávislosti proměnných x (test multikolinearity),
- analýza reziduí (test homoskedasticity).

F -test významnosti celkového modelu

Aby MLR model byl platný, musí být hodnota F -statistiky vyšší, než je kritická hodnota ($F_{1-\alpha(p-1, n-p)}$) na zvolené hladině významnosti ($\alpha = 0,05$) a stupních volnosti ($df_1 = p-1$ a $df_2 = n-p$). Statisticky významná F -hodnota (rovnice 1.2.1.8) vyjadřuje, že v modelu existuje alespoň jeden regresní koeficient b , který je statisticky významný.

Test významnosti regresních koeficientů (t-test)

Pomocí t -testu (rovnice 1.2.1.10) se ověřuje statistická významnost jednotlivých regresních koeficientů. Statisticky nevýznamný regresní koeficient ukazuje, že daný člen bx rovnice (1.2.1.1) nepřispívá k větší popsitelnosti modelu, a tedy příslušná proměnná x je nadbytečná.

$$t = \frac{b}{SE(b)} \quad (1.2.1.10)$$

Pokud výsledná hodnota t -testu je větší, než kritická hodnota ($t_{1-\alpha/2 \ (n-p)}$) na zvolené hladině významnosti $\alpha = 0,05$ a stupni volnosti $df = n - p$, daný regresní koeficient je významný.

Test nezávislosti proměnných

Proměnné x_1 až x_m rovnice (1.2.1.1) lze prověřit na vzájemnou nezávislost pomocí korelační analýzy dvojic proměnných. Silná korelace mezi proměnnými je označována jako multikolinearita. Proměnné vykazující multikolinearitu nelze použít v regresním modelu. Zde jsou uvedeny dva používané testy multikolinearity:

VIF (Variance Inflation Factor)

$$VIF = \frac{1}{1 - R_i^2} \quad (1.2.1.11)$$

V rovnici (1.2.1.11) R_i je koeficient mnohonásobné korelace mezi zvolenou proměnnou x a ostatními proměnnými, vypočtený z MLR (tedy uvažuje se závislost, kde např. proměnná x_1 je funkcí zbylých proměnných x_2, x_3 až x_m). Jako kritická hodnota se považuje $VIF = 10$ (někdy je uváděno i $VIF = 5$). Nezávisle proměnné x s hodnotou VIF vyšší než je kritická, jsou považovány jako silně korelující a tedy pro model nevhodné. VIF lze snadno vypočítat také jako inverzní matici ke korelační matici jednotlivých proměnných.

Scottova M_t hodnota

$$M_t = \frac{F/t_s - 1}{F/t_s + 1} \quad (1.2.1.12)$$

$$t_s = \frac{1}{p-1} \sum_{p=1}^{p-1} t_p^2 \quad (1.2.1.13)$$

V rovnicích (1.2.1.12) a (1.2.1.13) je F hodnota F -statistiky modelu, p je počet regresních parametrů, t_p je hodnota t -testu pro daný regresní koeficient ($\sum t_p^2$ je součet druhých mocnin t -testů všech regresních koeficientů). Hodnota M_t menší než 0,3 označuje vhodný model bez multikolinearity. Hodnota M_t větší než 0,8 poukazuje na nevhodný model s multikolinearitou a je nutné vyloučit některé proměnné. Pro M_t v intervalu $0,3 < M_t < 0,8$ je doporučena další analýza významnosti proměnných [141].

Analýza reziduí

Rozložení bodů v grafech závislostí reziduí \hat{e} vs \hat{y} nebo \hat{e} vs x_1 až x_m může poukazovat na heteroskedasticitu reziduí nebo na odlehlé hodnoty. Uvedené grafické znázornění mnohdy postačí k posouzení správnosti regresního modelu. Homoskedasticita je existence náhodných a nezávislých reziduí s normálním rozdělením, jak je uvedeno v podmínkách platnosti modelu. Je-li prokázána heteroskedasticita reziduí, regresní model nesplňuje podmínky a není platný. Zde jsou uvedeny některé testy homoskedasticity [139,142], použité v kapitole 3:

Znaménkový test náhodnosti reziduí

Jedná se o neparametrický test. Hodnoty reziduí se seřadí podle hlavní nezávisle proměnné x a vypočte se rozdíl dvou po sobě jdoucích reziduí ($\hat{e}_i - \hat{e}_{i-1}$). Určí se počet kladných a záporných rozdílů, jejichž celkový součet je roven k . Počet rozdílů, který je větší (kladný nebo záporný), je označen S . Po dosazení do vzorce (1.2.1.14) je získána hodnota U . Model má náhodné rozdělení reziduí (homoskedasticitu), je-li $U < 1,96$.

$$U = \frac{S + 0,5 - \frac{k-1}{2}}{\sqrt{\frac{k-1}{4}}} \quad (1.2.1.14)$$

Jako test náhodnosti reziduí lze také použít jednoduchý znaménkový test, podle počtu kladných a záporných hodnot reziduí.

Spearmanův test pořadové korelace

Jedná se o neparametrický test korelace pořadí pro menší počet hodnot (bodů) s pomocí Spearmanova korelačního koeficientu R_{sp} . Výhodou neparametrického testu je možnost univerzálního použití pro libovolná data, která nemusí vykazovat normální rozdělení. Vyhodnocuje se korelace mezi absolutními hodnotami reziduí $|\hat{e}|$ a proměnnými x_1 až x_m , případně mezi $|\hat{e}|$ a \hat{y} , s pomocí pořadí hodnot. Podle tabelovaných kritických hodnot R_{sp} se rozhodne, zdali existuje korelace proměnných s rezidui (heteroskedasticita).

Glejserův test závislosti reziduí

Využívá se pomocných regresních funkcí, tedy prověřování existence závislosti absolutních hodnot reziduí $|\hat{e}|$ na proměnných x_1 až x_m . Testují se konkrétní závislosti: $|\hat{e}| = f(x)$, $|\hat{e}| = f(1/x)$, $|\hat{e}| = f(\sqrt{x})$. Pokud nějaká z těchto funkcí prokáže platnost závislosti (např. pomocí F -statistiky regrese), testovaný model je heteroskedastický. Glejserův test se používá zpravidla pro větší počet hodnot (bodů) $n > 30$.

Whiteův test závislosti reziduí

Opět se využívá pomocné regresní funkce, konkrétně závislosti druhé mocniny reziduí na proměnných x_1 až x_m podle specifické funkce: $\hat{e}^2 = f(x_1, x_2, x_1^2, x_2^2, x_1 x_2)$. Na základě F -statistiky regrese je vyhodnocena případná existence závislosti, tj. heteroskedasticita reziduí. Whiteův test se používá pro větší počet hodnot $n > 30$.

F-test podobnosti dvou polovin reziduí

Používá se dvouvýběrový F -test pro porovnání rozptylů dvou skupin reziduí o stejném počtu. Rezidua \hat{e} se seřadí podle hlavní proměnné x a rozdělí na dvě stejné poloviny. Proveďte se F -test podobnosti obou polovin. Vyhodnocením F -testu podle kritické hodnoty ($F_{1-\alpha/2(n1-1,n1-1)}$) se rozhodne o případné podobnosti obou skupin reziduí, tj. homoskedasticitě modelu.

Goldfeld–Quandtův test

Opět se porovnávají dva soubory dat podle dvouvýběrového F -testu rovnosti rozptylů. Data (n hodnot) se seřadí podle hlavní proměnné x a rozdělí na dvě stejné poloviny, s vynecháním části hodnot uprostřed (vynechaná data $\leq n/4$). V každé polovině dat se provede MLR (y vs x_1, x_2 až x_m) a získané RSS obou skupin (RSS_1, RSS_2) se porovnají F -testem na rovnost rozptylů. Vyhodnocením F -testu podle kritické hodnoty ($F_{1-\alpha/2(n1-p,n2-p)}$) se rozhodne o případné podobnosti obou skupin, prokazujících homoskedasticitu reziduí.

Analýza reziduí, kromě testu homoskedasticity, zpravidla zahrnuje i zjišťování odlehlých bodů pomocí různých druhů reziduí (normovaná rezidua, standardizovaná rezidua, predikovaná rezidua aj.)

1.2.3 Výstavba regresního modelu

Cílem výstavby modelu je získat vztah, který pomocí zvolených proměnných co nejlépe popisuje experimentální hodnoty závisle proměnné y , za splnění předpokladů platnosti modelu. Rozhodujícím krokem je výběr vhodných proměnných (x_1, x_2 až x_m) z celkového souboru možných parametrů. Důležitou podmínkou je existence příčinné souvislosti: zvolené proměnné x musí souviset s vysvětlovanou proměnnou y a realisticky odpovídat studovanému ději. Obecně se uvažuje princip parsimonie, tedy jednodušší model je pravděpodobnější. Existuje několik metod výběru proměnných [139,140,142].

Volba proměnných

1) Optimalizace shora (Backward regression)

Všechny proměnné se zařadí najednou do MLR a postupně jsou vylučovány jednotlivé proměnné, které mají nevýznamné regresní koeficienty, podle rovnice (1.2.1.10). V okamžiku, kdy zůstanou jen ty proměnné, které mají všechny regresní koeficienty významné, model je optimální.

2) Optimalizace zdola (Forward regression)

Zde je postup opačný. Začíná se s jedinou proměnnou x , která má největší korelaci s y a postupně jsou přidávány další proměnné. Po každém kroku (přidání x do MLR) je sledována významnost regresních koeficientů (rovnice 1.2.1.10). V okamžiku, kdy už nebude možné přidat další proměnnou tak, aby její regresní koeficient byl významný, model je označen jako optimální.

3) Stepwise regression

Jedná se o kombinaci obou předchozích metod. Začíná se optimalizací zdola a při každém přidání nové proměnné se prověří, jestli nelze zároveň vyloučit nějakou z již zařazených proměnných, na základě t -testu významnosti regresních koeficientů (rovnice 1.2.1.10). Stepwise regression je prováděna zpravidla pomocí PC programu. Tato metoda bývá nejvíce používána.

4) Test všech kombinací proměnných

Sestaví se všechny možnosti vzájemných kombinací proměnných x v modelu. Postupně jsou vyhodnocovány jednotlivé rovnice závislostí, podle významnosti regresních koeficientů a případně dalších kritérií platnosti modelu. Uvedená metoda je poměrně pracná, nicméně patří mezi nejpřesnější a často doporučované postupy.

Po zařazení další proměnné do modelu nebo naopak vyloučení proměnné je důležité posoudit, nakolik se zvýší popsatelnost modelu. Jako kritérium se používá se F -test významnosti regresního modelu přidáním proměnné (regresoru):

F-test významnosti přidáním proměnné

$$F = \frac{(RSS_1 - RSS_2)(n - p_2)}{RSS_2(p_2 - p_1)} \quad (1.2.1.15)$$

RSS_1 residuální součet čtverců pro původní model,

RSS_2 residuální součet čtverců pro model rozšířený o další proměnnou (regresor),

n počet bodů,

p_1 počet regresních parametrů pro původní model,

p_2 počet regresních parametrů pro rozšířený model,

Jeli výsledná F -hodnota větší, než kritická ($F_{1-\alpha(p_2-p_1, n-p_2)}$), poté nárůst popsatelnosti modelu přidáním další proměnné je statisticky významný, a tedy rozšířený model je vhodnější. Tento test slouží k porovnání dvou modelů, které se liší zpravidla o jednu proměnnou ($p_2 - p_1 = 1$). Rovnici (1.2.1.15) je možné použít například i k posouzení, zda je lepší lineární ($p_1 = 2$) nebo kvadratická ($p_2 = 3$) závislost. V tomto případě je rovnice nazývána Mandelův test linearity.

U každého modelu, který byl vybrán jako vyhovující z hlediska zastoupení proměnných x , je nutné prověřit podmínky předpokladu platnosti regresního modelu (kapitola 1.2.2). Nadbytek proměnných zpravidla vede k multikolinearitě, příliš málo proměnných může způsobit heteroskedasticitu.

1.2.4 Hodnocení kvality regresního modelu

Pro porovnání schopnosti predikce různých modelů (s odlišnými proměnnými) jsou používána následující kritéria [139,140]:

PRESS (Predictive residual sum of squares)

Jedná se o charakteristiku modelu, získanou na základě predikce hodnot y_i , kde k sestavení regresní rovnice pro výpočet hodnoty \hat{y}_i byla použita data s vynecháním

i-tého bodu (hodnoty y_i) v MLR. Tedy jedná se o RSS získaný metodou interní validace (cross-validation (cv), leave-one-out).

$$PRESS = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_{i(-i)})^2 \quad (1.2.1.16)$$

V rovnici (1.2.1.16) člen $\hat{y}_{i(-i)}$ je predikovaná hodnota y modelem sestaveným bez použití i-tého bodu. Hodnota $PRESS$ modelu bývá vždy větší, než jeho RSS . Nižší hodnota $PRESS$ znamená lepší model (menší chyba predikce). Zkratka $PRESS$ bývá uváděna i pod jinými názvy (predicted residual error sum of squares aj.)

Střední kvadratická chyba predikce (MEP)

Pro porovnání predikční schopnosti modelů na souborech dat s různým počtem bodů (hodnot) n je používána střední kvadratická chyba predikce (Mean error of prediction):

$$MEP = \frac{PRESS}{n} \quad (1.2.1.17)$$

Nižší hodnota střední kvadratické chyby predikce znamená lepší model.

Predikovaný koeficient determinace Q^2 (R_{cv}^2)

Charakteristika regresního modelu odvozená od $PRESS$. V porovnání s R^2 bývá Q^2 vždy nižší.

$$Q^2 = 1 - \frac{PRESS}{TSS} \quad (1.2.1.18)$$

Podobně jako u R^2 , vyšší hodnota Q^2 vyjadřuje lepší model.

Mallow's Cp

Toto kritérium umožňuje zvolit nejvhodnější kombinaci proměnných v daném modelu. Uvažuje se model se všemi proměnnými, kde je celkový počet regresních parametrů

(p_{all}) . Následně je model upravován vynecháním jednotlivých proměnných, kdy v studovaném modelu je p regresních parametrů. Dosazením regresních charakteristik do rovnice (1.2.1.19) lze zjistit, jestli konkrétní studovaný model (s p parametry) je vyhovující, v porovnání s celkovým modelem.

$$C_p = p + \frac{(MRS_p - MRS_{all})(n - p)}{MRS_{all}} = \frac{RSS_p(n - p_{all})}{RSS_{all}} + 2p - n \quad (1.2.1.19)$$

MRS_p reziduální rozptyl studovaného modelu, $MRS_p = RSS_p / (n - p)$,

MRS_{all} reziduální rozptyl celkového modelu, $MRS_{all} = RSS_{all} / (n - p_{all})$,

RSS_p reziduální součet čtverců studovaného modelu s p regresními parametry,

RSS_{all} reziduální součet čtverců celkového modelu se všemi regresními parametry p_{all} .

Taková kombinace proměnných v modelu, jehož hodnota C_p je blízká nebo rovna hodnotě p , ukazuje na vhodný model. Vyšší C_p indikuje horší model.

Akaikeho informační kritérium (AIC)

Často používané univerzální kritérium vhodnosti modelu, platné i na nelineární regresní modely. Menší hodnota AIC znamená lepší model.

$$AIC = n \cdot \ln\left(\frac{RSS}{n}\right) + 2p \quad (1.2.1.20)$$

Pro menší počet dat (n) je doporučeno použití upraveného kritéria AICc podle rovnice (1.2.1.21):

$$AICc = AIC + \frac{2p(p+1)}{n-p-1} \quad (1.2.1.21)$$

Parametr AICc je použitelný pro libovolně veliký soubor hodnot.

Každé z uvedených kritérií, pro hodnocení kvality regresního modelu, má určité výhody. Při výběru optimálního modelu je zpravidla nutno zvážit více hledisek.

1.3 Přehled publikovaných výsledků: predikce retence skupiny 21 látek LSER modelem v mobilních fázích methanol-voda a acetonitril-voda

Na závěr teoretické části je uveden stručný souhrn dvou diplomových prací [143,144] zabývajících se použitím solvatačního (LSER) modelu k popisu retence látek na reverzní stacionární fázi v širokém rozmezí složení mobilní fáze. Na tyto výsledky navazuje v kapitole 2 další část práce čerpající ze stejných experimentálních dat. V uvedených pracích byla měřena vybraná skupina 21 látek zahrnující různé druhy organických sloučenin: látky aromatické, alifatické, kyslíkaté a dusíkaté deriváty uhlovodíků a halogenderiváty. Podmínkou výběru byla dostupnost LSER deskriptorů, možnost UV detekce a alespoň částečná rozpustnost sloučenin ve vodě. Jako mobilní fáze byly zvoleny směsi methanol-voda a acetonitril-voda ve složení 1 až 100 % obj. obsahu organického rozpouštědla v mobilní fázi. Byla vybrána reverzní stacionární fáze s navázaným C-8 uhlovodíkovým řetězcem.

Cílem uvedených prací bylo popsat retenci látek LSER modelem v širokém rozsahu složení mobilní fáze. Byl kladen důraz na tyto tři základní hlediska:

- Výběr vhodného souboru látek pro měření retence.
- Rozsah složení mobilní fáze od 1 % do 100 % organické složky.
- Predikce retence s pomocí dvou nezávislých skupin látek (training set, testing set).

Zde jsou souhrnně zmíněny experimentální podmínky v uvedených pracích. Retence látek byla měřena na kapalinovém chromatografu ECOM sestaveného z čerpadla LCP 4000, dávkovacího ventilu D 1995 se smyčkou o objemu 10 μ L a UV-VIS detektoru LCD 2084. Použitá stacionární fáze byla kolona LiChrospher 60 RP-select B, 125 mm x 4 mm, s velikostí částic 5 μ m, získaná od Merck Germany.

Retenční čas sloučenin byl měřen izokraticky postupně ve všech mobilních fázích s průtokovou rychlostí 1mL/min při pokojové teplotě. UV detekce látek byla nastavena na vlnovou délku 254 nm pro aromatické sloučeniny a 200 nm pro alifatické. Retence byla měřena v mobilních fázích methanol-voda a acetonitril-voda o složení 1; 5; 10; 20; 40; 60; 80; 90; 95 and 100 objemových % organického rozpouštědla. Koncentrace

studovaných látek byla v rozmezí $1 \cdot 10^{-2}$ až $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ podle intenzity odezvy signálu v detektoru. Ke stanovení mrtvého času byl použit roztok uracilu o koncentraci $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

V tabulce P1 (kap. 5) je uveden seznam studovaných látek a jejich LSER deskriptorů. Sloučeniny pokrývají širokou oblast vlastností z pohledu solvatačního modelu na základě uvedených hodnot deskriptorů a jejich normalizovaného rozsahu. Dále je uvedena měřená retence všech látek v jednotlivých mobilních fázích (tab. P2). Některé látky nebyly měřeny ve všech mobilních fázích z důvodu nemožného určení přesného retenčního času (chvostování píků) nebo příliš velké retence.

V následujících výpočtech byla retenční data sloučenin zpracovávána z hlediska popisu LSER modelu. Pro retenční data odpovídající dané mobilní fázi byla provedena MLR mezi deskriptory látek a jejich retencí v podobě logaritmu retenčního faktoru ($\log k$). Na základě získaných regresních koeficientů a výsledků statistiky byly charakterizovány jednotlivé separační systémy s danými mobilními fázemi. Byl zpracován průběh regresních koeficientů v závislosti na složení mobilní fáze a interpretován z pohledu probíhajících interakcí.

V solvatačním modelu se člen eE ukázal jako statisticky nevýznamný, i z důvodu vyšších korelací mezi deskriptorem E a ostatními LSER parametry studovaných sloučenin. V konečné fázi uvedených prací byla provedena predikce retence jednotlivých látek modelem LSER. Sloučeniny byly rozděleny do dvou rovnocenných skupin z hlediska deskriptorů a chemických vlastností. Predikce byla provedena metodou externí validace s použitím skupin training set a testing set pro získání nezávislých odhadů vypočtené retence.

Výsledné hodnoty vypočtené retence látek jsou uvedeny v tabulce P2. Úspěšnost predikce v jednotlivých mobilních fázích byla posouzena porovnáním naměřené retence a vypočtené retence jako korelace experimentálních a predikovaných hodnot. Dále byla vypočtena průměrná chyba predikce odpovídající na jednu sloučeninu v dané mobilní fázi. Oba tyto parametry hodnocení predikce jsou zobrazeny v tabulce P3.

Výsledkem těchto prací bylo zhodnocení popisu retence látek a jejich predikce v mobilních fázích se zaměřením na krajní koncentrace org. složky v mobilní fázi.

Závěrem lze shrnout:

na základě hodnot koeficientu determinace R^2 (tab. P3) solvatační model v systému methanol-voda byl schopen popsat retenci v téměř celém rozsahu složení mobilní fáze. Nejlepší popis retence byl dosažen ve střední oblasti složení mobilní fáze, průměrná chyba predikce zde dosahovala nejmenších hodnot. Naopak v krajních oblastech, kde výrazně převažuje jedna složka nad druhou, byl popis méně přesný. Přesto v prostředí s nízkým obsahem methanolu (1 - 10 %) byla predikce retence uspokojivá. V oblasti 90 % methanolu a více se LSER model ukázal jako statisticky nevýznamný.

Popis retence v mobilní fázi acetonitril-voda byl vyhovující v prostředí se střední a nízkou koncentrací acetonitrilu. Podobně jako v případě methanol-voda, v oblasti 1-10 % org. rozpouštědla byla retence poměrně dobře popsána, dokonce lépe, než v methanolu. Nejlepší predikce retence v systému acetonitril-voda byla dosažena ve střední oblasti, kde vykazovala nejmenší průměrnou chybu predikce. S rostoucím obsahem acetonitrilu v mobilní fázi hodnota koeficientu determinace postupně klesá a nad 80 % dosahuje statisticky nevýznamné hodnoty.

Srovnáním obou mobilních fází, systém acetonitril-voda poskytoval menší průměrnou chybu predikce (0,105) v porovnání se systémem methanol-voda (0,135), jak je uvedeno ve spodním řádku tabulky P3. Na druhou stranu, systém methanol-voda se ukázal více použitelný pro popis retence v širším rozmezí složení mobilní fáze.

2 POPIS RETENCE SKUPINY 21 LÁTEK LSER MODELEM V MOBILNÍCH FÁZÍCH METHANOL-VODA A ACETONITRIL-VODA

Tato část navazuje na výsledky diplomových prací, popsaných na konci teoretické části (kap. 1.3), kde byla zpracovávána data z HPLC retence na reverzní stacionární fázi v širokém rozmezí složení mobilní fáze.

Pozn.:

Přílohy s označením P jsou uvedeny na konci práce v kapitole 5 (Přílohy P).

2.1 Porovnání retence 21 měřených látek a jejich průběh v jednotlivých mobilních fázích

V této části práce jsou znázorněny a popsány hodnoty experimentální retence všech 21 látek v mobilních fázích methanol-voda a acetonitril-voda v podobě závislosti logaritmu retenčního faktoru na složení mobilní fáze. Cílem je porovnat retenční chování jednotlivých sloučenin a možnost jejich popisu modelem LSST (kap. 1.1.2). Dalším důvodem je posoudit odchylky od retenčního chování látek v krajních oblastech složení mobilní fáze.

POSTUP PRÁCE:

Naměřené hodnoty logaritmu retenčního faktoru dané látky byly vyneseny oproti složení mobilní fáze, vyjádřené jako objemová procenta methanolu či acetonitrilu. Dané závislosti jsou graficky znázorněny v následujících grafech (obr. P1 a P2). Pro každou látku byla provedena regresní analýza, kde hodnoty retence ($\log k$) byly prokládány lineární a kvadratickou závislostí na obj. procentech daného org. rozpouštědla v mobilní fázi. Obě tyto závislosti byly statisticky porovnány z hlediska významnosti a následně byla zvolena lineární nebo kvadratická funkce popisu retence dané látky. Byl použit F -test linearity (rovnice 1.2.15) vyhodnocující, zdali rozšíření lineární závislosti na kvadratickou přinese zvýšení popsitelnosti modelu.

Srovnáním s kritickou hodnotou $F_{0,95(1,n-p2)}$ bylo rozhodnuto o použití výsledné regresní funkce. V grafech (obr. P1 a P2) jsou body proloženy zvolenou závislostí a uvedena regresní rovnice s hodnotou koeficientu determinace, kde y odpovídá $\log k$ a x obj. procentům methanolu či acetonitrilu v mobilní fázi. Porovnání těsnosti proložení závislostí mezi jednotlivými látkami bylo provedeno na základě hodnot koeficientu determinace.

Bylo potřeba provést korekci na počet měřených hodnot pro každou sloučeninu, který se u některých látek lišil a také zohlednit lineární nebo kvadratický typ regresní funkce. Proto byl vypočten korigovaný koeficient determinace R^2_{adj} (kap. 1.2.1), který sloužil jako výsledné kritérium hodnocení popisu retence modelem LSST.

Následně byly měřené látky seřazeny podle velikosti R^2_{adj} od největší hodnoty po nejmenší pro oba systémy methanol-voda a acetonitril-voda, jak je uvedeno v tabulce 2. LSST jako empirický model se často používá k znázornění průběhu retence v různém složení mobilní fáze (kap. 1.1.2). Pro většinu organických sloučenin [13] vykazuje pravidelnou lineární nebo kvadratickou závislost s vysokou hodnotou koeficientu determinace [14]. Nicméně retence některých látek v určitém prostředí stacionární a mobilní fáze nemusí vykazovat pravidelnou křivku, tedy není pravidlem kvadratický či lineární průběh funkce pro všechny sloučeniny [12].

VÝSLEDKY A DISKUZE:

U všech látek v prostředí methanol-voda a acetonitril-voda byly závislosti statisticky významné a ukazovaly pravidelný trend měřených hodnot retence podle složení mobilní fáze. Na obr. P1 a P2 jsou zobrazeny grafy pro jednotlivé sloučeniny s uvedenou regresní rovnicí a koeficientem determinace pro oba systémy methanol-voda, acetonitril-voda.

Ze zmíněných grafů je patrné, že model LSST lépe popisuje retenci v prostředí methanolu. Rozptyl bodů okolo proložené křivky je menší, což je patrné i z vyšších hodnot koeficientu determinace. V obou mobilních fázích byla většina látek popsána kvadratickou závislostí. Křivky pro acetonitril-voda jsou výrazněji prohnuté (větší hodnota koeficientu kvadr. členu v regresní rovnici), než v případě methanol-voda.

Převažuje konvexní trend funkce, pouze nitromethan, nitroethan a dichlormethan mají konkávní tvar pro oba druhy mobilní fáze.

Dalším předmětem studia byla retence jednotlivých sloučenin v okrajových oblastech složení mobilní fáze, kde výrazněji převažuje jedna složka nad druhou. V pracích zabývajících se LSST modelem bývá často zmíněno nepravidelné retenční chování látek s typickým zakřivením křivky právě v zmíněných okrajových oblastech. Jako důvod se uvádí omezená smáčivost stacionární fáze a možný kolaps navázaných uhlovodíkových řetězců, projevující se poklesem retence v mobilních fázích s vysokým podílem vody. V opačné části s převažující složkou organického rozpouštědla dochází k omezení solvofóbního efektu mobilní fáze a zvýšení silanofilních interakcí se stacionární fází.

V grafech (obr. P1), znázorňujících retenci v prostředí methanol-voda, je u malého počtu sloučenin patrný mírný rozptyl bodů okolo křivky ve výše zmíněných okrajových oblastech. Jedná se převážně o alifatické látky a anilin. Aromatické sloučeniny celkově vykazují pravidelnější retenci. V prostředí bohatém na vodu (1-10 % methanolu) se typické zakřivení křivky dolů v podstatě nevyskytuje.

Výraznější odchylky bodů od proložené závislosti jsou patrné u systému acetonitril-voda (obr. P2). Většina alifatických látek ukazuje rozptyl v okrajových částech složení mobilní fáze. V prostředí s převažující vodnou složkou (1-10 % acetonitrilu) je patrný pokles retence se zakřivením křivky dolů pouze u několika analytů (nitromethan, nitroethan, dichlormethan). Většina sloučenin vykazuje pravidelnou vzrůstající retenci až do téměř čisté vody. Rovněž v případě acetonitrilu jsou aromatické sloučeniny lépe popsány.

Lze tedy předpokládat, že struktura stacionární fáze v prostředí 1-10 % organického rozpouštědla nebyla změněna a probíhal zde podobný separační mechanismus jako v prostředí mobilní fáze s vyrovnaným podílem vody a organického rozpouštědla.

Tabulka 2

Pořadí látek podle velikosti R^2_{adj} proložené funkce závislosti retence na složení mobilní fáze. Analyty jsou seřazeny od největší hodnoty po nejmenší, pro mobilní fáze methanol-voda a acetonitril-voda

MeOH-voda			ACN-voda		
		R^2_{adj}			R^2_{adj}
1	Benzaldehyd	0,9999	1	<i>o</i> -Kresol	0,9995
2	Nitrobenzen	0,9999	2	Fenol	0,9993
3	Benzen	0,9995	3	Nitrobenzen	0,9987
4	Fenol	0,9995	4	Benzonitril	0,9984
5	<i>o</i> -Kresol	0,9995	5	Benzylalkohol	0,9981
6	2-Nitroanilin	0,9993	6	Anilin	0,9979
7	Benzonitril	0,9992	7	2-Nitroanilin	0,9972
8	Dichlormethan	0,9991	8	Benzen	0,9967
9	Benzamid	0,9988	9	Benzaldehyd	0,9961
10	Benzylalkohol	0,9983	10	Propylformiát	0,9917
11	2-Pentanon	0,9980	11	Chloroform	0,9896
12	Cyklohexanon	0,9976	12	2-Pentanon	0,9816
13	Nitroethan	0,9965	13	Cyklohexanon	0,9815
14	Anilin	0,9939	14	Nitromethan	0,9707
15	Ethylformiát	0,9937	15	Dichlormethan	0,9664
16	Propylformiát	0,9934	16	Ethylformiát	0,9580
17	Chloroform	0,9912	17	Benzamid	0,9538
18	<i>N,N</i> -Dimethylformamid	0,9888	18	Butyraldehyd	0,9293
19	Diethylether	0,9864	19	Diethylether	0,8991
20	Nitromethan	0,9765	20	nitroethan	0,8568
21	Butyraldehyd	0,9503	21	<i>N,N</i> -Dimethylformamid	0,6842
	Průměr	0,9933		Průměr	0,9593

Pro posouzení přesnosti popisu retence jednotlivých látek modelem LSST bylo sestaveno pořadí podle hodnoty korigovaného koeficientu determinace R^2_{adj} zobrazené v tabulce 2. Analyty jsou seřazeny od nejvyšší hodnoty R^2_{adj} odpovídající nejlepšímu popisu pro obě mobilní fáze. Zde je rovněž patrné, že aromatické sloučeniny jsou celkově lépe popsitelné LSST modelem. Systém methanol-voda ukázal přesnější popis retence, který je znázorněn vyššími hodnotami R^2_{adj} jednotlivých analytů, jak je zřejmé srovnáním v tabulce 2.

2.2 Porovnání predikce retence jednotlivých látek LSER modelem

V předchozích pracích (kap. 1.3) byl LSER model studován z hlediska schopnosti predikce retence látek v daných mobilních fázích. V této části práce je pozornost zaměřena na jednotlivé sloučeniny a jejich predikci retenčního chování.

POSTUP PRÁCE:

Z hodnot naměřené a vypočtené retence (tab. P2) byly získány absolutní hodnoty reziduí odpovídající daným látkám, ve všech mobilních fázích methanol-voda a acetonitril-voda. Pro každou sloučeninu byla vypočtena průměrná chyba predikce ($\Delta \log k_A$), jako součet absolutních hodnot reziduí látky ze všech mobilních fází ve kterých byla měřena, dělený jejich počtem (rovnice 2.2.1).

$$\Delta \log k_A = \frac{\sum_{i=1}^n |\log k_{i,\text{exp}} - \log k_{i,\text{calc}}|}{n} \quad (2.2.1)$$

$\Delta \log k_A$ průměrná chyba predikce dané látky

$\log k_{i,\text{exp}}$ měřená hodnota logaritmu retenčního faktoru dané látky v mobilní fázi i

$\log k_{i,\text{calc}}$ vypočtená hodnota logaritmu retenčního faktoru dané látky v mobilní fázi i

n počet měřených mobilních fází pro danou látku (u většiny látek $n = 10$)

Látky byly seřazeny podle rostoucí chyby predikce $\Delta \log k_A$ (tab. 3) a vyhodnoceny odlehle sloučeniny i z hlediska chemických vlastností. Dále bylo porovnáno, jestli odlehle hodnoty analytů v prostředí methanol-voda vykazují odlehlost také v prostředí acetonitril-voda. Vyhodnocení bylo provedeno pomocí neparametrického testu korelace pořadí, výpočtem hodnoty Spearmanova korelačního koeficientu.

VÝSLEDKY A DISKUZE:

V tabulce 3 je uveden seznam látek podle rostoucí chyby predikce $\Delta \log k_A$ pro obě mobilní fáze. Zatímco v případě methanol-voda je rozdělení sloučenin v seznamu víceméně náhodné, v případě acetonitril-voda je patrný větší výskyt alifatických látek ve spodní části tabulky, ukazující na horší predikci těchto sloučenin. Aromáty celkově zauímají lepší pořadí (nižší hodnotu) v uvedené tabulce podle odlehlosti látek. Pro porovnání těchto dvou druhů analytů byla vypočtena průměrná hodnota chyby predikce $\Delta \log k_A$ odpovídající jedné látce pro skupinu aromatických a alifatických sloučenin (jako součet $\Delta \log k_A$ pro všechny aromáty (příp. alifatické) dělený jejich počtem).

Tabulka 3

Pořadí látek podle rostoucí chyby predikce ($\Delta \log k_A$) pro mobilní fáze methanol-voda a acetonitril-voda

MeOH-voda		chyba predikce	ACN-voda		chyba predikce
1	Nitrobenzen	0,031	1	Propylformiát	0,031
2	Ethylformiát	0,043	2	Nitrobenzen	0,049
3	Chloroform	0,048	3	Anilin	0,053
4	Nitroethan	0,053	4	Benzaldehyd	0,054
5	Anilin	0,054	5	Cyklohexanon	0,060
6	Cyklohexanon	0,072	6	Benzylalkohol	0,063
7	Benzaldehyd	0,075	7	Ethylformiát	0,067
8	Propylformiát	0,085	8	Benzonitril	0,068
9	Benzylalkohol	0,091	9	2-Pentanon	0,068
10	Nitromethan	0,113	10	Chloroform	0,080
11	Benzamid	0,113	11	Nitroethan	0,085
12	Benzonitril	0,118	12	Benzamid	0,104
13	2-Pentanon	0,124	13	2-Nitroanilin	0,104
14	2-Nitroanilin	0,135	14	Nitromethan	0,109
15	Benzen	0,164	15	o-Kresol	0,123
16	Dichlormethan	0,167	16	Benzen	0,150
17	o-Kresol	0,176	17	Fenol	0,165
18	Butyraldehyd	0,190	18	Dichlormethan	0,174
19	Fenol	0,274	19	Butyraldehyd	0,205
20	Diethylether	0,305	20	N,N-Dimethylformamid	0,226
21	N,N-Dimethylformamid	0,374	21	Diethylether	0,284
Průměr aromatické látky		0,123	Průměr aromatické látky		0,093
Průměr alifatické látky		0,143	Průměr alifatické látky		0,126

V systému methanol-voda tato průměrná chyba predikce činila hodnotu 0,123 pro aromáty a 0,143 pro alifatické látky. Prostředí acetonitril-voda ukazuje podobný trend, hodnota chyby predikce je rovna 0,093 pro aromáty a 0,126 pro alifatické sloučeniny.

Dále bylo zjištěno, že v predikci retence dané látky vykazují podobnou odlehlost pro obě mobilní fáze. Analyty dobře popsané v prostředí methanol-voda jsou rovněž lépe popsané v systému acetonitril-voda. Korelační analýza pořadí chyb predikce $\Delta \log k_A$ uvedených v tab. 3 nabývá hodnoty Spearmanova korelačního koeficientu $R_{sp} = 0,830$, prokazující podobnou velikost chyb predikce jednotlivých sloučenin v obou mobilních fázích.

2.3 Porovnání modelů LSER a LSST v popisu retence 21 látek

V některých pracích zabývajících se obecným popisem retence LSER modelem v různém složení mobilní fáze bylo použito kombinace se vztahem LSST. Tento rozšířený model byl nazván globální LSER (kap. 1.1.8). Důvodem byla snazší konstrukce solvatační rovnice v prostředí, kde se mění vzájemný poměr složek mobilní fáze. Regresní koeficienty LSER modelu v sobě odrážejí vlastnosti mobilní fáze a jejich závislost na složení mobilní fáze lze popsat s využitím vztahu LSST. Výhodou této kombinace je skutečnost, že pro různé složení mobilní fáze není nutné pokaždé určovat nové regresní koeficienty, ale lze je vypočítat podle jejich pravidelné závislosti určené LSST rovnicí, pomocí dvou parametrů $\log k_w$ a S pro každý regresní koeficient. Ukázalo se, že model globální LSER, předpokládající lineární vztah logaritmu retenčního faktoru a regresních koeficientů LSER rovnice na složení mobilní fáze, má omezenou platnost na úzký rozsah složení mobilní fáze. Ve větším rozmezí složení je nutno použít kvadratickou závislost.

Cílem této kapitoly je porovnat, na kolik se tyto dva modely, vzájemně kombinované v globálním LSER, shodují v popisu retence jednotlivých analytů. V této práci retenční data 21 látek pokrývají široký rozsah složení mobilní fáze, vhodný ke studiu obou zmíněných modelů. V kapitole 2.1 byl použit model LSST k znázornění

závislosti logaritmu retenčního faktoru analytů na složení mobilní fáze v podobě lineární nebo kvadratické funkce. Odchyly mezi naměřenou a vypočtenou retencí látek (rezidua) uvedenými regresními závislostmi (LSST) budou srovnány s popisem retence daných sloučenin LSER modelem.

POSTUP PRÁCE:

Pro porovnání odhadu retence analytů oběma modely byla použita rezidua získaná z regresní analýzy. V případě modelu LSER, byla provedena MLR mezi deskriptory látek a jejich naměřenými hodnotami $\log k$ postupně pro všechny mobilní fáze, podobně jako v předešlých pracích (kap. 1.3). Z výpočtů byl vyřazen deskriptor E z důvodu statistické nevýznamnosti členu eE . Získané regresní koeficienty byly použity k formulaci LSER rovnice pro odhad retence analytů. Z regresních rovnic byly vypočteny hodnoty logaritmu retenčního faktoru a dále rezidua jako rozdíl mezi experimentální a vypočtenou retencí. V tomto případě nejde přímo o nezávislou predikci látek jako v kapitole 1.3, ale jen o popis retence LSER modelem, kde MLR je prováděna ze stejného souboru sloučenin, jaký je následně odhadován. Tedy nebyly zde použity rozdíly mezi naměřenou a vypočtenou retencí zpracovávané v kapitole 2.2 a zobrazené v tabulce P2a,b)

Podobný postup byl aplikován u modelu LSST. Regresní rovnice popisující závislost logaritmu retenčního faktoru látek na procentech methanolu příp. acetonitrilu v mobilní fázi, jsou znázorněny v grafech (obr. P1 a P2) a v tabulce P4a,b). Pomocí uvedených rovnic byly vypočteny hodnoty retence analytů (označené $\log k_{\text{LSST}}$) a poté rezidua jako rozdíl mezi experimentální a vypočtenou retencí.

Dále byly vzájemně porovnány absolutní hodnoty reziduí obou modelů pro jednotlivé sloučeniny, podobným způsobem jako v kapitole 2.2 (rovnice 2.2.1), a také celkový popis retenčního chování všech analytů v daném složení mobilní fáze.

VÝSLEDKY A DISKUZE:

Tabulka P5a,b) zobrazuje hodnoty regresních koeficientů a výsledky MLR pro oba systémy methanol-voda a acetonitril-voda. V tabulce 4a) je zobrazeno pořadí látek podle vzrůstající absolutní hodnoty reziduí, tj. od sloučenin nejlépe popsanych modely

LSER a LSST pro mobilní fázi methanol-voda. Ze znázorněného pořadí analytů je patrná malá podobnost obou modelů. Byla provedena korelační analýza uvedených reziduí modelu LSER a LSST jako neparametrický test korelace pořadí. Nebyla nalezena souvislost těchto dvou souborů dat, hodnota Spearmanova korelačního koeficientu odpovídala hodnotě $R_{Sp} = 0,225$.

Tabulka 4a)

Pořadí látek podle rostoucí absolutní hodnoty reziduí, od sloučenin nejlépe popsanych modelem LSER a modelem LSST pro mobilní fázi methanol-voda. Ve spodním řádku je uvedena průměrná hodnota reziduí ze všech látek

MeOH-voda	rezidua LSER	MeOH-voda	rezidua LSST
1 <i>o</i> -Kresol	0,015	1 2-Nitroanilin	0,000
2 Benzaldehyd	0,020	2 Nitrobenzen	0,005
3 Cyklohexanon	0,031	3 Benzen	0,007
4 Ethylformiát	0,034	4 Benzaldehyd	0,008
5 Chloroform	0,034	5 Fenol	0,013
6 Benzamid	0,036	6 Dichlormethan	0,014
7 Nitrobenzen	0,038	7 Diethylether	0,015
8 Benzonitril	0,051	8 <i>o</i> -Kresol	0,016
9 Propylformiát	0,056	9 Benzonitril	0,020
10 Dichlormethan	0,056	10 Benzamid	0,022
11 2-Nitroanilin	0,057	11 Chloroform	0,024
12 2-Pentanon	0,064	12 Benzylalkohol	0,025
13 Benzylalkohol	0,064	13 Nitroethan	0,025
14 Fenol	0,068	14 <i>N,N</i> -Dimethylformamid	0,031
15 Nitroethan	0,070	15 Cyklohexanon	0,033
16 Anilin	0,072	16 Nitromethan	0,038
17 Benzen	0,097	17 2-Pentanon	0,038
18 Nitromethan	0,103	18 eEthylformiát	0,044
19 Diethylether	0,132	19 Propylformiát	0,047
20 <i>N,N</i> -Dimethylformamid	0,168	20 Anilin	0,057
21 Butyraldehyd	0,178	21 Butyraldehyd	0,073
Průměr	0,069	Průměr	0,026

V případě popisu retence modely LSER a LSST v mobilní fázi acetonitril-voda je pořadí látek podle absolutní hodnoty reziduí uvedeno v tabulce 4b). Korelační analýza reziduí zde poskytla hodnotu Spearmanova korelačního koeficientu $R_{Sp} = 0,504$, která je vyšší než kritická hodnota ($R_{Sp,crit} = 0,433$ pro 21 párů hodnot).

Provedený test prokázal mírnou korelaci obou souborů dat, znázorňující podobnost popisu retence zmíněnými modely.

Tabulka 4b)

pořadí látek podle rostoucí absolutní hodnoty reziduí, od sloučenin nejlépe popsanych modelem LSER a modelem LSST pro mobilní fázi acetonitril-voda. Ve spodním řádku je uvedena průměrná hodnota reziduí ze všech látek

ACN-voda		rezidua LSER	ACN-voda		rezidua LSST
1	Nitrobenzen	0,015	1	Fenol	0,014
2	<i>o</i> -Kresol	0,024	2	<i>o</i> -Kresol	0,015
3	Benzaldehyd	0,027	3	Anilin	0,023
4	Benzonitril	0,033	4	Nitrobenzen	0,029
5	Benzamid	0,036	5	Benzonitril	0,029
6	2-Pentanon	0,039	6	Chloroform	0,035
7	Cyklohexanon	0,044	7	2-Nitroanilin	0,037
8	Anilin	0,053	8	Propylformiát	0,039
9	Ethylformiát	0,054	9	Benzen	0,041
10	Benzylalkohol	0,057	10	Benzylalkohol	0,042
11	2-Nitroanilin	0,060	11	Benzaldehyd	0,043
12	Propylformiát	0,062	12	2-Pentanon	0,063
13	Fenol	0,067	13	Ethylformiát	0,070
14	Nitroethan	0,071	14	Diethylether	0,078
15	Benzen	0,075	15	Cyklohexanon	0,084
16	Dichlormethan	0,085	16	Benzamid	0,120
17	Chloroform	0,099	17	<i>N,N</i> -Dimethylformamid	0,137
18	Nitromethan	0,121	18	Dichlormethan	0,213
19	Diethylether	0,121	19	Butyraldehyd	0,257
20	<i>N,N</i> -Dimethylformamid	0,155	20	Nitromethan	0,319
21	Butyraldehyd	0,188	21	Nitroethan	0,351
průměr		0,071	průměr		0,097

Celkově je patrné lepší popsání retence modelem LSST v systému methanol-voda, podle průměrných hodnot reziduí obou modelů uvedených na konci tabulky 4a). Naopak v prostředí acetonitril-voda byla chyba popisu modelem LSST horší ve srovnání s modelem LSER (tab. 4b). Porovnáním hodnot reziduí v studovaných mobilních fázích je zřejmé, že přesnost odhadu retence modelem LSER pro systém methanol-voda je téměř stejná jako u systému acetonitril-voda. V případě modelu LSST je podstatně lepší popis v prostředí methanol-voda, jak bylo též uvedeno v kapitole 2.1.

Dále byly porovnány oba modely z hlediska popisu retence celé skupiny látek v daném složení mobilní fáze. V tabulce 5a) jsou pro jednotlivé mobilní fáze znázorněny absolutní hodnoty reziduí odpovídající průměrné chybě jedné látky v systému methanol-voda. Tabulka ukazuje, jak byl popis retence pomocí modelů LSER a LSST úspěšný v jednotlivých mobilních fázích. Model LSST vykazuje téměř vyrovnanou hodnotu reziduí v celém rozsahu složení mobilní fáze, bez odchylek v krajních oblastech, na rozdíl od modelu LSER (obr. 3a). Korelační analýza reziduí (tab. 5a) obou modelů nenalezla podobnost, Spearmanův korelační koeficient byl roven hodnotě $R_{Sp} = -0,273$.

Tabulka 5a,b)

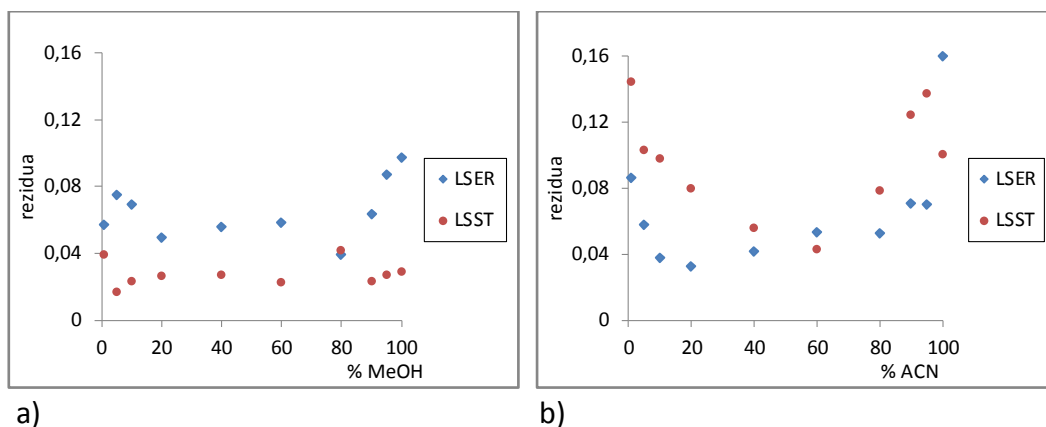
Absolutní hodnoty reziduí připadající na jednu látku v daném složení mobilní fáze pro systém: a) methanol-voda, b) acetonitril-voda

a)

% MeOH	rezidua	
	LSER	LSST
1	0,057	0,039
5	0,075	0,016
10	0,068	0,023
20	0,049	0,026
40	0,055	0,027
60	0,058	0,022
80	0,039	0,042
90	0,063	0,023
95	0,087	0,027
100	0,097	0,028
Průměr	0,065	0,027

b)

% ACN	rezidua	
	LSER	LSST
1	0,086	0,144
5	0,057	0,102
10	0,037	0,098
20	0,032	0,079
40	0,041	0,055
60	0,053	0,043
80	0,052	0,078
90	0,070	0,124
95	0,070	0,137
100	0,159	0,100
Průměr	0,066	0,096



Obr. 3a,b)

Závislost absolutních hodnot reziduí modelů LSER a LSST na objemových procentech org. rozpouštědla v mobilní fázi (uvedených v tab. 5a,b) pro a) methanol-voda, b) acetonitril-voda

V tabulce 5b) jsou znázorněny absolutní hodnoty reziduí pro jednotlivé mobilní fáze v systému acetonitril-voda, zpracované stejným způsobem jako v předchozím případě. V tomto prostředí je patrný podobný trend popisu retence oběma modely, v krajních oblastech složení mobilní fáze rezidua nabývají vyšších hodnot (obr. 3b). Provedená korelační analýza reziduí (tab. 5b) prokázala podobnost obou modelů, Spearmanův korelační koeficient nabývá hodnoty $R_{Sp} = 0,648$.

Závěrem této kapitoly lze shrnout, že oba studované modely LSER a LSST se v popisu retence souboru 21 látek shodují poměrně málo. V případě mobilní fáze methanol-voda analýza reziduí těchto modelů neprokázala vzájemnou podobnost. V prostředí acetonitril-voda byla nalezena mírná shoda modelů LSER a LSST v trendu reziduí pro jednotlivé analyty a v porovnání popisu retence v daných mobilních fázích.

2.4 Kombinace modelů LSER a LSST k popisu retence

Tato část práce se zabývá možností použití kombinace modelů LSST a LSER pro popis retence. Model LSST znázorňuje lineární a kvadratické závislosti logaritmu retenčního faktoru látek na množství organického rozpouštědla v mobilní fázi. Jak bylo dříve

uvedeno, v této práci jsou rovněž zpracovávána retenční data získaná z krajních oblastí mobilních fází, kde výrazně převažuje jedna složka nad druhou. V tomto prostředí často dochází k různým odchylkám v retenčním chování látek. Nahrazením měřené retence hodnotami vypočtenými pomocí modelu LSST, který předpokládá pravidelné chování analytů, by se zmíněné odchylky eliminovaly. Použitím těchto upravených retenčních hodnot v modelu LSER by se získal popis retence sloučenin, vykazujících předpokládané chování v celém rozsahu složení mobilní fáze.

V krajním prostředí s převažujícím methanolem příp. acetonitrilem v mobilní fázi se navíc projevuje i vyšší experimentální chyba retence, způsobená malými retenčními faktory měřených sloučenin. Tato nepřesnost by se rovněž eliminovala použitím zmíněných upravených hodnot. Dalším důvodem studia kombinace vztahů LSER a LSST je rovněž použití těchto modelů v globálním LSER, jak již bylo zmíněno v kapitole 2.3. Cílem této práce je zjistit, jak dokáže LSER model popsat retenci látek, jejichž chování je určené vztahem LSST.

POSTUP PRÁCE:

Hodnoty retence látek vypočtené modelem LSST ($\log k_{\text{LSST}}$) byly již použity v kapitole 2.3 (tab. P4). Postup konstrukce LSER modelu je podobný jako v předchozí kapitole, jen místo měřené retence byly použity hodnoty $\log k_{\text{LSST}}$. Byla provedena MLR, kde jako nezávisle proměnné vystupovaly deskriptory látek a jako závisle proměnné byly dosazeny hodnoty logaritmu retenčního faktoru ($\log k_{\text{LSST}}$), vypočtené vztahem LSST pro jednotlivé sloučeniny ve všech mobilních fázích (tab. P4). Popis retenčního chování analytů tímto upraveným LSER modelem (označeným $\text{LSER}_{\text{LSST}}$) byl porovnán s původním modelem, kde bylo použito experimentálních hodnot $\log k$.

VÝSLEDKY A DISKUZE:

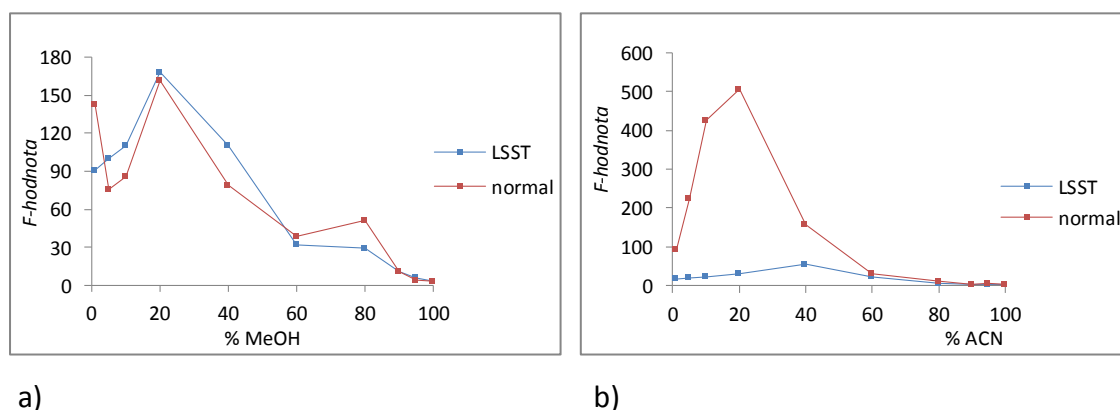
Výsledky provedené MLR modelu $\text{LSER}_{\text{LSST}}$ pro mobilní fázi methanol-voda a acetonitril-voda jsou uvedeny v tabulce P6. Kvůli přehlednosti je dále v textu uváděno označení ($_{\text{LSST}}$), jako dolní index u parametrů a názvů, které náleží k modelu $\text{LSER}_{\text{LSST}}$.

Pro porovnání popisu retence látek modelem $LSER_{LSST}$ v jednotlivých mobilních fázích byl použita F -statistika regrese. V následujícím grafu (obr. 4a) jsou znázorněny F -hodnoty regrese pro systém methanol-voda, rovněž je uvedeno srovnání se statistikou původního modelu (tab. P5a) počítaného z experimentálních hodnot $\log k$ (kap. 2.3). Ze zobrazených hodnot grafu je patrné, že nový model (F_{LSST}) je téměř totožný s původním, jak do velikosti F -hodnoty, tak z hlediska průběhu křivky v jednotlivých mobilních fázích. V krajní oblasti složení s převažujícím methanolem (80 - 100 %) nedošlo ke zlepšení popisu retence modelem $LSER_{LSST}$.

Obr. 4a,b)

Závislost hodnot F -statistiky regrese na objemových procentech org. rozpouštědla v mobilní fázi (tab. P6) pro původní $LSER$ model (označeno normal) a kombinovaný model $LSER_{LSST}$ (označeno LSST):

a) methanol-voda, b) acetonitril-voda



V případě systému acetonitril-voda je průběh F -statistiky znázorněn v grafu (obr. 4b). Ve srovnání s původním modelem (tab. P5b) došlo použitím hodnot $\log k_{LSST}$ k podstatnému zhoršení popisu retence, jak je patrné porovnáním bodů v uvedeném grafu. Ani v oblasti složení mobilní fáze s nadbytkem acetonitrilu (80 - 100 %) model $LSER_{LSST}$ neposkytl lepší popis. Horší výsledky v prostředí acetonitril-voda lze předpokládat na základě závěru předchozí kapitoly 2.3, kde retence látek vypočtená modelem $LSST$ ukázala větší chybu, než retence získaná modelem $LSER$.

Poslední část této kapitoly se zabývá vlivem upravených hodnot $\log k_{\text{LSST}}$ na hodnoty regresních koeficientů a jejich průběh závislosti na složení mobilní fáze. Regresní koeficienty v LSER modelu bývají zpravidla popisovány lineární nebo kvadratickou funkcí [70]. Jak bylo zmíněno v kap. 1.1.8, podle modelu globalní LSER jsou regresní koeficienty přímo určeny ze vztahu LSST, řídí se danou lineární či kvadratickou závislostí na objem. procentech organického rozpouštědla v mobilní fázi. Závislost regresních koeficientů na složení mobilní fáze methanol-voda a acetonitril-voda, pro LSER model 21 látek, byla již studována v diplomových pracích (kap. 1.3). Ukázalo se, že některé tyto závislosti vykazují nepravidelný průběh v určité oblasti složení mobilní fáze. Na obr. P3 a P5 jsou zobrazeny uvedené závislosti regresních koeficientů pro methanol-voda a acetonitril-voda získané z MLR po vyloučení členu eE ze solvatační rovnice, znázorněné v tabulce P5a,b).

Cílem této části je porovnat, jak se pravidelnost v retenčním chování látek, získaná dosazením hodnot $\log k_{\text{LSST}}$ do LSER modelu, projeví v závislosti regresních koeficientů na složení mobilní fáze.

V prostředí methanol-voda, regresní koeficienty $\text{LSER}_{\text{LSST}}$ mají o trochu pravidelnější průběh a menší rozptyl bodů okolo proložené kvadratické funkce (obr. P4) popsané vyššími hodnotami R^2 ve srovnání s původními regresními koeficienty (obr. P3). Jejich statistická významnost zůstala stejná jako u původních hodnot. Tedy v prostředí methanol-voda došlo k mírnému zlepšení závislosti regresních koeficientů.

Pro systém acetonitril-voda, regresní koeficienty $\text{LSER}_{\text{LSST}}$ vykazují rovněž lepší průběh (obr. P6) podle hodnot R^2 , oproti původním regresním koeficientům (obr. P5). Jak bylo uvedeno na základě hodnot F -statistiky (obr. 4b) model $\text{LSER}_{\text{LSST}}$ má podstatně horší popis retence, přesto regresní koeficienty $\text{LSER}_{\text{LSST}}$ ukazují lepší průběh závislostí, popsanými kvadratickou funkcí s vyššími hodnotami R^2 , v porovnání s původními. V okrajových oblastech složení mobilní fáze jsou některé regresní koeficienty nevýznamné.

Lze konstatovat, že závislost regresních koeficientů na složení mobilní fáze je více ovlivněna pravidelnou retencí látek určenou vztahem LSST, než přesností popisu retence analytů samotným LSER modelem (F -hodnota regrese).

Závěrem této kapitoly lze shrnout, že zavedením upravených hodnot $\log k_{\text{LSST}}$ do modelu LSER nedošlo k zlepšení popisu retence. V mobilní fázi methanol-voda zůstaly hodnoty F -statistiky regrese (F_{LSST}) zhruba stejné jako u původního modelu. Systém acetonitril-voda ukázal podstatně horší popis retence ve srovnání s původními hodnotami $\log k$.

Předpoklad z úvodní části kapitoly o kompenzaci odchylek retenčního chování látek v okrajových oblastech složení mobilní fáze rovněž nebyl potvrzen použitím hodnot $\log k_{\text{LSST}}$. Model LSER lépe popisuje původní experimentální hodnoty $\log k$, i přes jejich odlehlost od pravidelného průběhu retence popsaného LSST vztahem.

Závislosti regresních koeficientů $\text{LSER}_{\text{LSST}}$ na složení mobilní fáze, získané dosazením hodnot $\log k_{\text{LSST}}$ do modelu LSER, ukazují menší rozptyl bodů od proložené kvadratické křivky a vyšší hodnoty koeficientu determinace. Zlepšení těchto závislostí oproti původním hodnotám (modelu LSER) nastalo i v případě systému acetonitril-voda, kde popis retence modelem $\text{LSER}_{\text{LSST}}$ ukázal podstatné zhoršení.

2.5 Vliv volby látek na popis retence LSER modelem

Záměrem v této kapitole je porovnat, jaký má vliv výběr látek použitých ke konstrukci LSER modelu, na výsledný popis retence tímto modelem. Jak se ukázalo v předešlých pracích (kap. 1.3) zabývajících se predikcí retence analytů pomocí dvou skupin (training set a testing set), volba látek v MLR ovlivňuje celkovou úspěšnost LSER modelu a i velikost hodnot regresních koeficientů.

V této části budou analyty rozděleny podle chemické struktury na skupiny zahrnující podobné sloučeniny. K porovnání popisu retence solvatačním modelem bude sledována těsnost popisu regrese (F -statistika) v různém složení mobilní fáze. Výběrová skupina 21 látek obsahuje látky aromatické i alifatické, stejně tak kyslíkaté a dusíkaté deriváty organických sloučenin. Pro provedení MLR se čtyřmi LSER deskriptory je zapotřebí mít ve skupině alespoň 6 látek. Daný set 21 analytů lze rozdělit do dvou souborů, na aromatické látky a alifatické látky, nebo na kyslíkaté deriváty a dusíkaté

deriváty. Pro vyrovnanost počtu analytů ve skupině byly látky s atomem kyslíku a zároveň dusíku (amidy) považovány jako dusíkaté.

POSTUP PRÁCE:

Všech 21 analytů bylo rozděleno na soubory sloučenin aromatických a alifatických. V každé skupině byla provedena MLR s hodnotami měřené retence látek ($\log k$) a jejich deskriptory pro všechny mobilní fáze. Deskriptor E byl vynechán z modelu na základě již dříve uvedených důvodů. Výsledná hodnota F -statistiky regrese byla použita ke srovnání popisu retence LSER modelem v obou skupinách. Dále byly látky rozděleny na skupiny kyslíkatých sloučenin a dusíkatých. Následující postup byl stejný jako v předchozím případě.

VÝSLEDKY A DISKUZE:

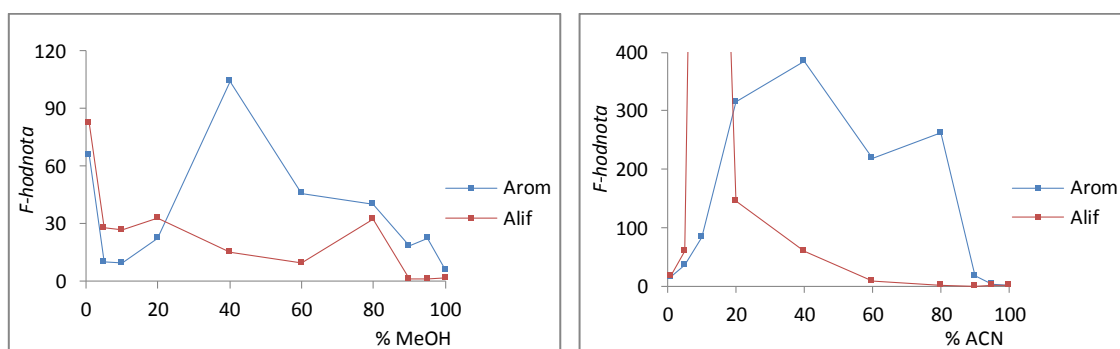
V tabulce (tab. P7) jsou uvedeny hodnoty F -statistiky regrese studovaných skupin látek. Dále jsou v tabulce 6 uvedeny skupiny analytů podle rozdělení. Pro názornost jsou F -hodnoty zobrazeny graficky (obr. 5-7), podle složení mobilní fáze, porovnáním obou studovaných souborů sloučenin.

Tabulka 6

Rozdělení 21 látek na skupiny aromatických a alifatických sloučenin, kyslíkatých a dusíkatých derivátů

Skupiny látek		Skupiny látek	
Aromatické	Alifatické	Kyslíkaté	Dusíkaté
Anilin	2-Pentanon	2-Pentanon	2-Nitroanilin
Benzaldehyd	Butyraldehyd	Benzaldehyd	Anilin
Benzamid	Cyklohexanon	Benzylalkohol	Benzamid
Benzen	Diethylether	Butyraldehyd	Benzonitril
Benzonitril	Dichlormethan	Cyklohexanon	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
Benzylalkohol	Ethylformiát	Diethylether	Nitrobenzen
Fenol	Chloroform	Ethylformiát	Nitroethan
<i>o</i> -Kresol	<i>N,N</i> -Dimethylformamid	Fenol	Nitromethan
2-Nitroanilin	Nitroethan	<i>o</i> -Kresol	
Nitrobenzen	Nitromethan	Propylformiát	
	Propylformiát		

V mobilní fázi methanol-voda se na základě vyšších hodnot F -statistiky ukázalo, že skupina aromatických látek vykazuje lepší popis retence LSER modelem v porovnání s alifatickými sloučeninami (obr. 5a). Zde byl opět potvrzen závěr z předešlých kapitol o lepším popisu aromatických sloučenin. Podle znázorněných křivek v (obr. 5a) je patrné, že aromatické látky vykazují největší F -hodnoty ve střední oblasti složení mobilní fáze, ale i v mobilních fázích s vysokým obsahem methanolu poskytují poměrně velké F -hodnoty, porovnáním s hodnotami původního souboru všech 21 látek (tab. P4) obr. 4a). LSER Model s vybranými 10 aromatickými sloučeninami se ukázal významný v celém rozsahu složení mobilní fáze, tj. od 1 do 100 % methanolu, na základě porovnání s kritickou hodnotou F -statistiky ($F_{0,95(4;6)} = 4,53$).



a)

b)

Obr. 5a,b)

Znázornění hodnot F -statistiky regrese LSER modelu (tab. P7) podle složení mobilní fáze pro skupinu látek aromatických (Arom) a alifatických (Alif) v prostředí:

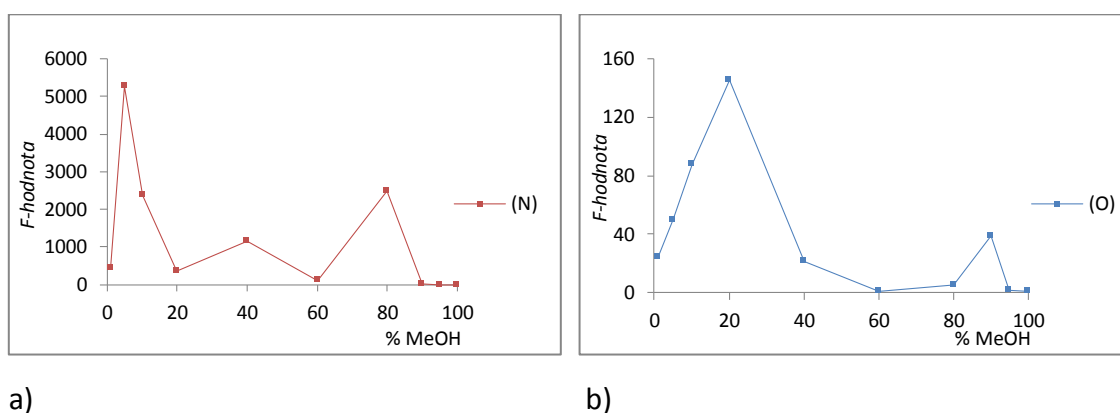
a) methanol-voda

b) acetonitril-voda (bod odpovídající 10 % acetonitrilu (Alif) má F -hodnotu = 1896,2)

V prostředí acetonitril-voda popis skupin aromatických a alifatických látek LSER modelem ukázal podobný trend jako u methanol-voda. Podstatně vyšší F -statistika pro aromatické sloučeniny (obr. 5b) ukazuje platnost LSER modelu v poměrně širokém rozsahu složení mobilní fáze od 1 do 90 % acetonitrilu. Skupina alifatických látek poskytla statisticky významný popis retence pouze v rozmezí 1 - 60 % acetonitrilu. Pro mobilní fázi s 10 % acetonitrilu dosáhla F -statistika vysoké hodnoty $F = 1896,2$, ale

vzhledem k nižším ostatním F -hodnotám se pravděpodobně jedná pouze o odlehlý výsledek.

Dále byly studovány skupiny kyslíkatých a dusíkatých derivátů. Zde je bohužel menší počet dusíkatých látek (8) v porovnání s kyslíkatými (10). V mobilní fázi methanol-voda soubor dusíkatých analytů ukázal vysoké hodnoty F -statistiky (obr. 6a) dalece převyšující hodnoty původního souboru 21 sloučenin. Kyslíkaté sloučeniny poskytly podstatně menší F -hodnoty (obr. 6b) v prostředí mobilní fáze 60 % methanolu model nebyl statisticky významný.

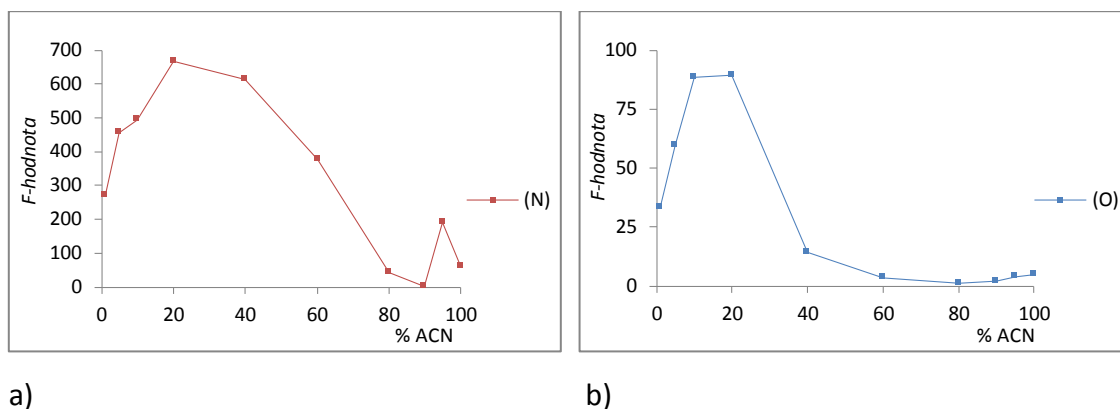


Obr. 6a,b)

Znázornění hodnot F -statistiky regrese LSER modelu (tab. P7) podle složení mobilní fáze methanol-voda pro skupinu látek:

a) dusíkaté deriváty (N), b) kyslíkaté deriváty (O)

V mobilní fázi acetonitril-voda dusíkaté látky rovněž ukázaly vyšší F -hodnoty (obr. 7a), v porovnání s původním souborem všech sloučenin, a také poskytly statisticky významný popis retence LSER modelem v téměř celém rozmezí složení mobilní fáze. Skupina kyslíkatých sloučenin (obr. 7b) vykazovala podstatně menší F -statistiku znázorňující významnost LSER modelu pouze pro polovinu měřených mobilních fází, tj. v rozmezí složení 1 - 40 % acetonitrilu.



Obr. 7a,b)

Znázornění hodnot F -statistiky regrese LSER modelu (tab. P7) podle složení mobilní fáze acetonitril-voda pro skupinu látek:

a) dusíkaté deriváty (N), b) kyslíkaté deriváty (O)

Závěrem lze konstatovat, že popis retence látek modelem LSER je poměrně citlivý na volbu sloučenin z hlediska chemické struktury. Výběr analytů patrně hraje významnou roli ovlivňující výsledky a celkovou úspěšnost predikce retenčního chování solvatačním modelem. Soubor 21 látek použitý v této práci je ale příliš malý na to, aby mohl být použit k rozsáhlejšímu studiu popisu retence jednotlivých typů org. sloučenin LSER modelem. Výsledky znázorněné v této kapitole mají proto spíše orientační charakter.

2.6 Shrnutí výsledků kapitoly 2

V této kapitole byl studován popis retence 21 látek solvatačním modelem na reverzní stacionární fázi v širokém rozmezí složení mobilní fáze. Pozornost byla zaměřena na průběh retence jednotlivých analytů a následně jejich predikci LSER modelem. Ukázalo se, že aromatické sloučeniny jsou lépe popsány solvatačním modelem, než alifatické sloučeniny.

Dále byl použit model LSST k znázornění závislosti retenčního chování látek na složení mobilní fáze. V prostředí mobilní fáze methanol-voda byla retence látek modelem LSST lépe popsána, než v případě acetonitril-voda.

Následně byly oba zmíněné modely porovnány, jak popisují retenci daných látek. Ukázala se poměrně malá shoda modelů LSER a LSST v přesnosti odhadu retence jednotlivých analytů. Aromatické sloučeniny v obou případech poskytly menší chybu odhadu retence, než alifatické.

LSER Model byl studován z hlediska popisu upravených hodnot retence látek, získaných použitím modelu LSST. Tento kombinovaný model $LSER_{LSST}$ neposkytnul zlepšení popisu retence ani v okrajových oblastech složení mobilní fáze, kde bývají patrné odchylky od pravidelného retenčního chování látek.

Volba analytů pro formulaci LSER modelu a jejich vliv na celkovou schopnost popisu retence tímto modelem byla sledována v poslední kapitole. Bylo zjištěno, že solvatační model je poměrně dost citlivý na výběr sloučenin podle chemické struktury.

Odlišných výsledků v odhadu retence lze dosáhnout použitím setu látek obsahujících např. pouze sloučeniny aromatické či alifatické, nebo kyslíkaté a dusíkaté deriváty.

3 POPIS RETENCE C5-C8 ALKENŮ LSER MODELEM: POUŽITÍ DVOU METOD VÝPOČTU DESKRIPTORU L

3.1 Úvod kapitoly 3

Abrahamův solvatační model (kap. 1.1.7) je používán k popisu retenčního chování různorodých typů sloučenin. V současnosti není žádná práce, která by se zabývala popisem retence celé skupiny izomerů alkenů, měřené metodou plynové chromatografie. Jedním z možných důvodů je nedostatek LSER deskriptorů k charakterizaci retence těchto látek. Databáze solvatačních deskriptorů obsahuje více než 5000 sloučenin, mezi nimiž jsou alkeny zastoupeny v počtu zhruba několika desítek. Konkrétně v případě izomerů alkenů s 5 až 8 uhlíky v molekule (C5-C8) je v databázi programu ADME Absolv 2.0 zahrnuto asi 40 látek z celkového počtu 152 sloučenin. Jak již bylo zmíněno v kapitole 1.1.7, většinu deskriptorů lze přesně získat pouze experimentální cestou. Existují odhadové metody, s jejichž pomocí lze deskriptory libovolných látek vypočítat, ovšem zpravidla s omezenou přesností. Odhad deskriptorů S , A , B bývá zatížen větší chybou [1,5,60], ale parametry L a E je možné těmito metodami určit poměrně přesně.

Retence alkenů v plynové chromatografii na nepolárních stacionárních fázích je nejvíce ovlivněna disperzními a kavitačními interakcemi charakterizovanými deskriptorem L . Dalším parametrem, který selektivně ovlivňuje retenci alkenů, je deskriptor E , znázorňující polární interakce spojené s polarizovatelností molekuly. V této práci byly pro popis retence alkenů LSER modelem vybrány deskriptory L a E . Tato volba byla učiněna na základě výše uvedených důvodů, tedy možnosti získat přesné odhady daných deskriptorů a významnosti jednotlivých interakcí v retenci alkenů.

Cílem práce v kapitole 3 je popsat retenci všech izomerů C5-C8 alkenů pomocí vypočtených LSER deskriptorů a zároveň porovnat dvě metody použité k výpočtu deskriptoru L .

Výsledky a diskuze jsou rozděleny na tři části, vzhledem k původu experimentálních dat a počtu měřených látek. Tato práce vychází z experimentálních

hodnot retence C5-C8 alkenů (152 sloučenin) měřených metodou plynové chromatografie s hmotnostní detekcí na stacionární fázi polydimethylsiloxanu (PDMS) a skvalanu skupinou Soják, Kubinec. Nejdříve byla získána retence všech 59 izomerů C5-C7 alkenů jako samostatné skupiny [145], později byla experimentální data doplněna o další soubor izomerů oktenů (93 látek) [146], měřený za stejných podmínek jako v předchozím případě alkenů C5-C7. Poněvadž retenční data alkenů pocházejí ze dvou samostatných experimentů, jsou rovněž Výsledky a diskuze v této kapitole rozděleny na několik částí: popis retence alkenů C5-C7, popis retence alkenů C8 a popis celkové skupiny C5-C8 alkenů, včetně rozboru retence jednotlivých skupin alkenů podle počtu atomů uhlíku v molekule.

Pozn.:

Přílohy s označením P jsou uvedeny na konci práce v kapitole 5 (Přílohy P).

3.2 Metodologie

Deskriptor L , jako hlavní parametr pro popis retence alkenů, byl počítán pomocí dvou odhadových metod, založených na příspěvcích jednotlivých funkčních skupin v molekule.

Metoda Havelec-Ševčík

Metoda autorů Havelec a Ševčík (HS) byla sestavena na základě výsledků vícenásobné lineární regrese, prováděné na 939 alifatických a 1075 aromatických sloučeninách z LSER databáze deskriptorů [67,68]. Výsledná hodnota deskriptoru L ($\log L^{16}$) pro studovanou látku je určena rovnicí (3.2.1):

$$\log L_{X}^{16} = \sum_{i=1}^n l_i * FG_i + \sum_{j=1}^n m_j * SC_j + \sum_{k=1}^n n_k * IC_k \quad (3.2.1)$$

FG, SC, IC počet jednotlivých funkčních skupin (FG), strukturních příspěvků (SC) a interakčních příspěvků (IC) tvořících sloučeninu X ,

- i, j, k identifikační čísla daných funkčních skupin (i), strukturních příspěvků (j) a interakčních příspěvků (k),
- l, m, n regresní koeficienty pro příspěvky funkčních skupin (l), strukturních příspěvků (m) a interakčních příspěvků (n).

Hodnoty jednotlivých příspěvků jsou uvedeny v tabulce 7. Metoda Havelec a Ševčík je určena pouze pro odhad deskriptoru L .

Metoda Platts-Butina

Metoda vyvinutá autory Platts, Butina a ostatní (PB) je určena pro výpočet odhadu LSER deskriptorů [65,66]. Původně byla odvozena z Klopmanova modelu pro odhad rozpustnosti organických látek ve vodě a určení rozdělovacího koeficientu oktanol-voda $\log P_{ow}$ [147,148]. Uvedený model byl rozpracován skupinou Platts, Butina a rozšířen o další příspěvky na celkový počet 81 fragmentů, což vedlo k zlepšení predikční schopnosti původního modelu. Metoda v sobě zahrnuje více strukturně-kvantově mechanických příspěvků a je obecně konstruována pro robustní odhad vlastností široké škály organických látek. Je určena k výpočtu 6 solvatačních deskriptorů (L, E, S, A, B, B_0) s různou přesností odhadu pro jednotlivé parametry. Neměla by být omezena pouze na predikci látek podobných training setu. Výpočet deskriptoru L metodou PB je podobný jako v případě metody HS. Hodnoty jednotlivých příspěvků této metody jsou uvedeny v tabulce 7.

Tabulka 7

Fragmenty (skupiny) a hodnoty jejich příspěvků se směrodatnou odchylkou (*sd*) použité k výpočtu deskriptoru *L* pomocí metod HS a PB

Skupina	Metoda HS		Metoda PB	
	hodnota	<i>sd</i>	hodnota	<i>sd</i>
(-CH ₃)	0,340	0,006	0,321	0,009
(-CH ₂ -)	0,502	0,001	0,499	0,002
(-CH<)	0,467	0,012	0,449	0,011
(>C<)	0,443	0,021	0,443	0,025
(=CH ₂)	0,249	0,016	0,244	0,021
(=CH-)	0,504	0,013	0,469	0,004
(>C=)	0,658	0,020	0,624	0,008
cis izomer	0,112	0,040	-	-
Interakce alkylů ¹	0,119	0,013	-	-
Konstanta ²	-	-	0,130	0,025

¹ interakce sousedících alkylů: jsou-li na uhlíkatém řetězci navázány vedle sebe alkylové skupiny, přičítá se tento příspěvek. Netýká se alkylů navázaných na uhlíky, mezi nimiž je dvojná vazba

² tato konstanta se automaticky přičítá ke každé počítané hodnotě deskriptoru

V tabulce 7 jsou uvedeny jednotlivé příspěvky pro obě metody, použité k výpočtu deskriptoru *L*. Zde je patrné několik rozdílů. Metoda HS zahrnuje více typů interakcí v rámci molekuly. Rozlišuje izomerii cis/trans a popisuje navíc interakce sousedících alkylových skupin. Velikost chyby příspěvku pro cis interakci je relativně vyšší, než u ostatních fragmentů. Na rozdíl od metody HS, metoda PB přidává konstantní hodnotu příspěvku pro všechny sloučeniny.

Deskriptor *E* je charakterizován jako přebytková molární refrakce (kap. 1.1.7.2) podle rovnic (1.1.7.10 a 1.1.7.11), které byly použity k jeho výpočtu. McGowanův charakteristický objem *V_x* sloučeniny lze vypočítat podle metody [57], jako součet molárních objemů jednotlivých atomů a vazeb. Hodnoty indexu lomu jsou dostupné v databázích fyzikálně-chemických vlastností látek.

3.3 Postup práce

Retenční data alkenů použita v této studii pocházejí z uvedených prací autorů Soják, Addová a Kubinec [145,146]. V případě C5-C7 alkenů, byla měřena směs po kapalném (fluidním) katalytickém krakování benzínu (FCC), obsahující všechny acyklické izomery alkenů C5-C7. Izomery byly separovány izotermicky (30°C) na nepolárních stacionárních fázích skvalanu a polydimethylsiloxanu s hmotnostní detekcí, případné směsné píky látek byly dekonvolucí rozlišeny na jednotlivé sloučeniny. Všechny alkeny, obsažené ve směsi, byly identifikovány pomocí jednotlivých standardů.

U druhé skupiny C8 alkenů, byla měřena modelová směs všech oktenů, získaná jednak z produktů "methylen-insertion" reakce, dále ze standardních referenčních materiálů a z kapalného (fluidního) katalytického krakování benzínu (FCC). Tato směs byla použita ke studiu retence oktenů a jejich identifikaci ve vzorku FCC benzínu metodou plynové chromatografie s hmotnostní detekcí. Separace probíhala za stejných podmínek jako u první skupiny, tj. izotermicky (30°C) na kapilárních kolonách se stacionárními fázemi skvalan a polydimethylsiloxan.

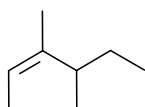
Deskriptor L byl vypočítán pomocí uvedených dvou odhadových metod HS a PB, jako součet aditivních fragmentů molekuly odpovídajících strukturním a funkčním příspěvkům.

Deskriptor E byl přímo vypočten podle výše uvedeného vztahu (1.1.7.10) ze znalosti indexu lomu a McGowanova charakteristického objemu V_x . Experimentální hodnoty indexu lomu alkenů n_D^{20} byly získány z on-line databáze Beilstein (Reaxys) a SciFinder. Pro alkeny s 5 až 8 uhlíky v molekule nabývá V_x těchto hodnot: C5 = 77,01 cm³ mol⁻¹; C6 = 91,10 cm³ mol⁻¹; C7 = 105,19 cm³ mol⁻¹; C8 = 119,28 cm³ mol⁻¹.

Přesnost určení deskriptoru E je v podstatě určena přesností stanovení experimentální hodnoty indexu lomu dané sloučeniny. Databáze fyzikálně-chemických vlastností látek poskytují pro některé alkeny hodnoty indexu lomu s omezenou přesností. Zejména v případě cis/trans izomerů oktenů, kde je často uváděna stejná hodnota indexu lomu pro obě formy sloučeniny.

Z důvodu jednotnosti výsledků byly deskriptory L a E alkenů vypočteny pro všechny látky, i včetně sloučenin se známými solvatačními deskriptory (39 alkenů v databázi). Experimentální hodnoty LSER deskriptorů některých alkenů byly získány z databáze programu ADME Absolv 2.0.

Pro názornost výpočtu deskriptoru L oběma metodami je zde uveden postup pro Z-3,4-dimethylhex-2-en:



$$L_{\text{HS}} = 4x(-\text{CH}_3) + (= \text{CH}-) + (= \text{C} <) + (-\text{CH} <) + (-\text{CH}_2-) + (\text{cis izomer}) + (\text{interakce alkylů})$$

$$L_{\text{HS}} = 4 \times 0,340 + 0,504 + 0,658 + 0,467 + 0,502 + 0,112 + 0,119 = \mathbf{3,722}$$

$$L_{\text{PB}} = 4x(-\text{CH}_3) + (= \text{CH}-) + (= \text{C} <) + (-\text{CH} <) + (-\text{CH}_2-) + (\text{konstanta})$$

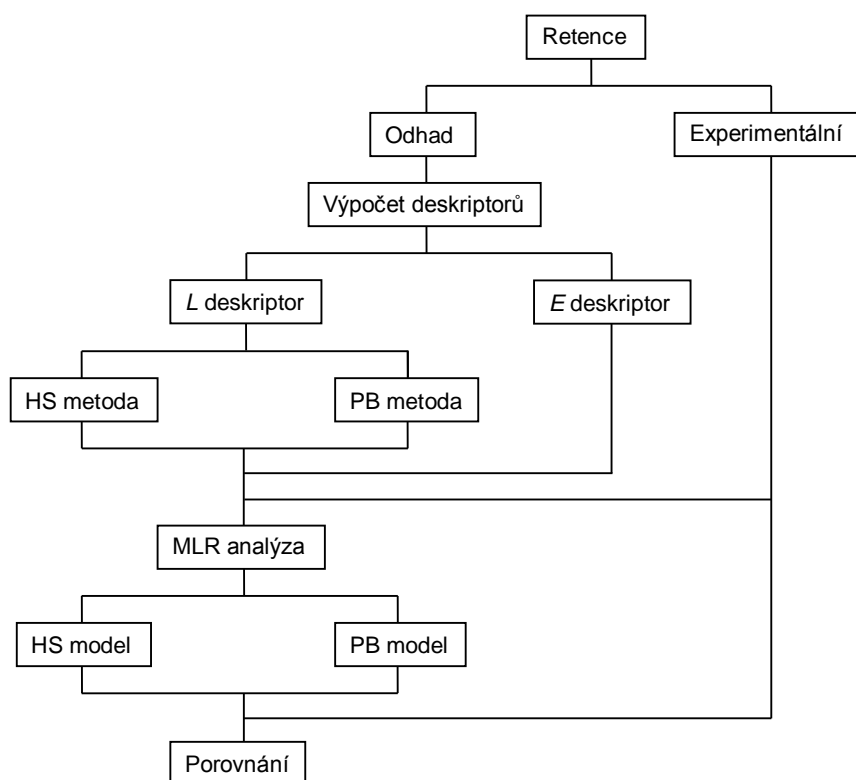
$$L_{\text{PB}} = 4 \times 0,321 + 0,469 + 0,624 + 0,449 + 0,499 + 0,130 = \mathbf{3,455}$$

L_{HS} označuje deskriptor L vypočtený metodou Havelec-Ševčík,

L_{PB} označuje deskriptor L vypočtený metodou Platts-Butina.

Získané deskriptory L_{HS} , L_{PB} a E byly statisticky porovnány s dostupnými experimentálními deskriptory. Byla provedena MLR analýza, kde jako závisle proměnná byl použit retenční index alkenů a jako nezávisle proměnné deskriptory alkenů. Získané regresní koeficienty byly použity k formulaci LSER rovnic. Byly sestaveny dva modely pro odhad retence alkenů, model HS a model PB, podle typu použitého deskriptoru L .

Všechny výpočty deskriptorů a MLR analýza byly prováděny pomocí programu MS Excel 2010 a statistického softwaru Minitab 1.7. Schématický postup práce je znázorněn na diagramu (Obr. 8):



Obr. 8

Diagram schématického postupu práce

3.4 Výsledky a diskuze

3.4.1 Popis retence C5-C7 alkenů

V tabulce P8 je uveden seznam všech C5-C7 alkenů a jejich vypočtených hodnot deskriptorů L_{HS} , L_{PB} a E_{calc} . Dále jsou znázorněny experimentální hodnoty deskriptorů L , E , S , B některých alkenů zastoupených v databázi programu ADME AbSolv 2.0. Experimentální hodnoty retence všech C5-C7 alkenů na stacionárních fázích skvalanu a PDMS jsou uvedeny v tabulce P9.

Byla provedena korelační analýza mezi vypočtenými deskriptory (test kolinearity). V případě deskriptorů L_{HS} a E_{calc} byla korelace $R = 0,349$ a mezi deskriptory L_{PB} a E_{calc} byla korelace $R = 0,330$. Na základě uvedených hodnot je zřejmé, že dané deskriptory jsou nezávislé a nevykazují vzájemnou korelaci (kolinearitu). Dále byly vypočteny hodnoty korelací mezi retencí všech alkenů (RI) a jednotlivými deskriptory, uvedené v tabulce 8. Na základě hodnot korelačních koeficientů je patrný rozhodující

vliv deskriptoru L na retenci alkenů. Podstatně menší korelaci s retencí ukazuje deskriptor E .

Tabulka 8

Hodnoty korelačního koeficientu odpovídající korelaci mezi retenčními indexy alkenů na skvalanu (RI , SQ), PDMS (RI , $PDMS$) a jednotlivými deskriptory. Označení deskriptorů je stejné jako v tabulce P8. V případě experimentálních deskriptorů ADME byla korelace provedena pouze pro 27 alkenů.

Korelace	L_{HS}	L_{PB}	E_{calc}	L_{adme}	E_{adme}	S_{adme}	B_{adme}
RI , SQ	0,979	0,985	0,379	0,999	0,332	-0,045	0,044
RI , $PDMS$	0,983	0,987	0,377	0,999	0,329	-0,046	0,040

Pro 27 alkenů se známými deskriptory z databáze ADME, největší korelace s retencí alkenů (tab. 8) vykazuje deskriptor L_{adme} ($R = 0,999$), méně koreluje E_{adme} ($R \approx 0,33$). Ostatní deskriptory S_{adme} , B_{adme} ukazují zanedbatelné hodnoty R menší než 0,05. Deskriptor A je u všech alkenů rovný nule. Vypočtený deskriptor E_{calc} (kap. 3.2 Metodologie) vykazuje pro některé alkeny v tabulce P8 mírné odchylky od experimentálních hodnot E_{adme} . Pravděpodobným důvodem je volba jiné experimentální hodnoty indexu lomu látky, použité k výpočtu deskriptoru E . Je zajímavé, že vypočtené hodnoty E_{calc} ukazují nepatrně vyšší korelaci s retencí alkenů, v porovnání s experimentálními E_{adme} podle tabulky 8.

V následujících rovnicích (3.4.1.1) a (3.4.1.2) je znázorněno porovnání experimentálních (L_{adme}) a vypočtených hodnot deskriptoru L pomocí metod HS a PB, formou regresní závislosti.

$$L_{HS} = 1,034(\pm 0,034)L_{adme} - 0,064(\pm 0,091) \quad (3.4.1.1)$$

$$(R^2 = 0,967; SE(y) = 0,067; n = 33)$$

$$L_{PB} = 0,993(\pm 0,028)L_{adme} + 0,032(\pm 0,075) \quad (3.4.1.2)$$

$$(R^2 = 0,975; SE(y) = 0,056; n = 33)$$

V rovnicích (3.4.1.1) a (3.4.1.2), R^2 je koeficient determinace, $SE(y)$ označuje směrodatnou odchylku závisle proměnné a n je počet bodů (látek) v regresi. Podle uvedených rovnic, deskriptor L_{PB} prokazuje větší závislost (podobnost) s experimentální hodnotou L_{adme} . Na základě korelací uvedených v tabulce 8 byl deskriptor L použit jako hlavní proměnná k formulaci regresního modelu. Nejdříve byla provedena MLR mezi retenčním indexem všech 59 alkenů a deskriptorem L . Takto byly vytvořeny dva LSER modely, model HS s deskriptorem L_{HS} a model PB s deskriptorem L_{PB} .

$$RI_{calc\ SQ} = 180,0(\pm 4,9)L_{HS} + 112,2(\pm 14,0) \quad (3.4.1.3)$$

(model HS $R^2 = 0,959$; $F = 1338$; $SE(RI) = 13,0$; $Q^2 = 0,957$; $n = 59$)

$$RI_{calc\ SQ} = 193,0(\pm 4,5)L_{PB} + 81,1(\pm 12,6) \quad (3.4.1.4)$$

(model PB $R^2 = 0,970$; $F = 1867$; $SE(RI) = 11,1$; $Q^2 = 0,969$; $n = 59$)

$$RI_{calc\ PDMS} = 182,5(\pm 4,6)L_{HS} + 114,4(\pm 13,0) \quad (3.4.1.5)$$

(model HS $R^2 = 0,966$; $F = 1602$; $SE(RI) = 12,1$; $Q^2 = 0,963$; $n = 59$)

$$RI_{calc\ PDMS} = 195,3(\pm 4,3)L_{PB} + 83,8(\pm 12,0) \quad (3.4.1.6)$$

(model PB $R^2 = 0,974$; $F = 2106$; $SE(RI) = 10,6$; $Q^2 = 0,972$; $n = 59$)

V rovnicích (3.4.1.3) až (3.4.1.6) je $RI_{calc\ SQ}$ vypočtený retenční index alkenů na skvalanu, $RI_{calc\ PDMS}$ vypočtený retenční index alkenů na PDMS, hodnoty v závorkách (\pm) jsou chyby odhadu regresních koeficientů, dále R^2 je koeficient determinace, F je hodnota Fisherovy F -statistiky, $SE(RI)$ označuje směrodatnou odchylku odhadu závisle proměnné (RI), Q^2 je predikovaný koeficient determinace (R^2_{cv}) a n je počet bodů (látek) v regresi.

Z rovnic (3.4.1.3) až (3.4.1.6) je na základě hodnot statistiky zřejmé, že lepší popis retence je dosažen modelem PB. Rovněž velikost regresního koeficientu I je větší a velikost konstantního členu c je menší u modelu PB, což ukazuje na významnější

popsatelnost retence pomocí deskriptoru L_{PB} . Retence na stacionární fázi PDMS byla u obou modelů o trochu lépe popsána, než v případě skvalanu. Dosazením deskriptorů alkenů L_{HS} a L_{PB} do rovnic (3.4.1.3) až (3.4.1.6) byla vypočtena jejich retence a porovnána s naměřenou (experimentální). Alkeny byly seřazeny podle stoupající absolutní hodnoty chyby odhadu. V případě modelu HS bylo zajímavé, že největší rozdíl mezi vypočtenou a naměřenou retencí (chyba odhadu) vykazují alkeny s cis konfigurací. V případě modelu PB nevykazoval žádný typ alkenů větší chybu odhadu, než ostatní typy.

V dalším kroku byla provedena úprava deskriptoru L_{HS} vyloučením příspěvku pro cis interakci. Podle tabulky 7 je vidět, že velikost fragmentu pro cis izomery má relativně vyšší hodnotu směrodatné odchylky (*sd*). Hodnoty L_{HS} bez příspěvku cis interakce jsou zobrazeny v tabulce P8 označené jako $L_{HS \text{ no cis}}$. Odečtením cis příspěvku se zmenšil vzájemný rozdíl mezi hodnotami L_{HS} a L_{PB} jednotlivých alkenů. Porovnáním vypočtených deskriptorů se známou experimentální hodnotou L_{adme} je patrné, že deskriptor $L_{HS \text{ no cis}}$ vykazuje menší odchylky, než v případě deskriptoru L_{PB} . Rovněž korelace L_{adme} s deskriptorem $L_{HS \text{ no cis}}$ je vyšší, než pro L_{PB} , jak je zřejmé z regresní závislosti v rovnici (3.4.1.7):

$$L_{HS \text{ no cis}} = 1,015(\pm 0,023)L_{adme} - 0,037(\pm 0,061) \quad (3.4.1.7)$$

$(R^2 = 0,984; SE(y) = 0,045; n = 33)$

Rovnice (3.4.1.8) a (3.4.1.9) popisují retenci alkenů za použití upraveného deskriptoru $L_{HS \text{ no cis}}$. Význam jednotlivých statistických parametrů je stejný jako u předešlých rovnic.

$$RI_{calc \text{ SQ}} = 187,7(\pm 3,2)L_{HS \text{ no cis}} + 95,4(\pm 9,2) \quad (3.4.1.8)$$

$(\text{model HS } R^2 = 0,983; F = 3336; SE(RI) = 8,4; Q^2 = 0,982; n = 59)$

$$RI_{calc \text{ PDMS}} = 190,0(\pm 2,9)L_{HS \text{ no cis}} + 98,1(\pm 8,2) \quad (3.4.1.9)$$

$(\text{model HS } R^2 = 0,987; F = 4288; SE(RI) = 7,5; Q^2 = 0,986; n = 59)$

Porovnáním s rovnicemi (3.4.1.3) až (3.4.1.6) je vidět významné zlepšení schopnosti odhadu retence modelem HS. Upravený model HS vykazuje lepší statistické charakteristiky, než model PB. Korelace mezi deskriptorem $L_{\text{HS no cis}}$ a E_{calc} byla podobná jako u původního deskriptoru, $R = 0,345$. Deskriptor $L_{\text{HS no cis}}$ pro všechny C5-C7 alkeny je uveden v tabulce P8.

V dalším kroku byla provedena MLR mezi retencí a oběma vypočtenými deskriptory L a E . Takto byly vytvořeny 4 rovnice pro odhad retence alkenů pomocí modelů HS a PB pro stacionární fáze skvalan a PDMS.

$$RI_{\text{calc SQ}} = 185,0(\pm 3,3)L_{\text{HS no cis}} + 72,9(\pm 30,9)E_{\text{calc}} + 94,3(\pm 8,8) \quad (3.4.1.10)$$

(model HS $R^2 = 0,985$; $F = 1804$; $SE(RI) = 8,1$; $Q^2 = 0,983$; $n = 59$)

$$RI_{\text{calc SQ}} = 189,1(\pm 4,5)L_{\text{PB}} + 105,3(\pm 40,4)E_{\text{calc}} + 79,5(\pm 12,0) \quad (3.4.1.11)$$

(model PB $R^2 = 0,974$; $F = 1032$; $SE(RI) = 10,6$; $Q^2 = 0,971$; $n = 59$)

$$RI_{\text{calc PDMS}} = 187,4(\pm 3,0)L_{\text{HS no cis}} + 69,9(\pm 27,4)E_{\text{calc}} + 97,1(\pm 7,8) \quad (3.4.1.12)$$

(model HS $R^2 = 0,988$; $F = 2354$; $SE(RI) = 7,1$; $Q^2 = 0,987$; $n = 59$)

$$RI_{\text{calc PDMS}} = 191,6(\pm 4,3)L_{\text{PB}} + 102,9(\pm 38,4)E_{\text{calc}} + 82,2(\pm 11,4) \quad (3.4.1.13)$$

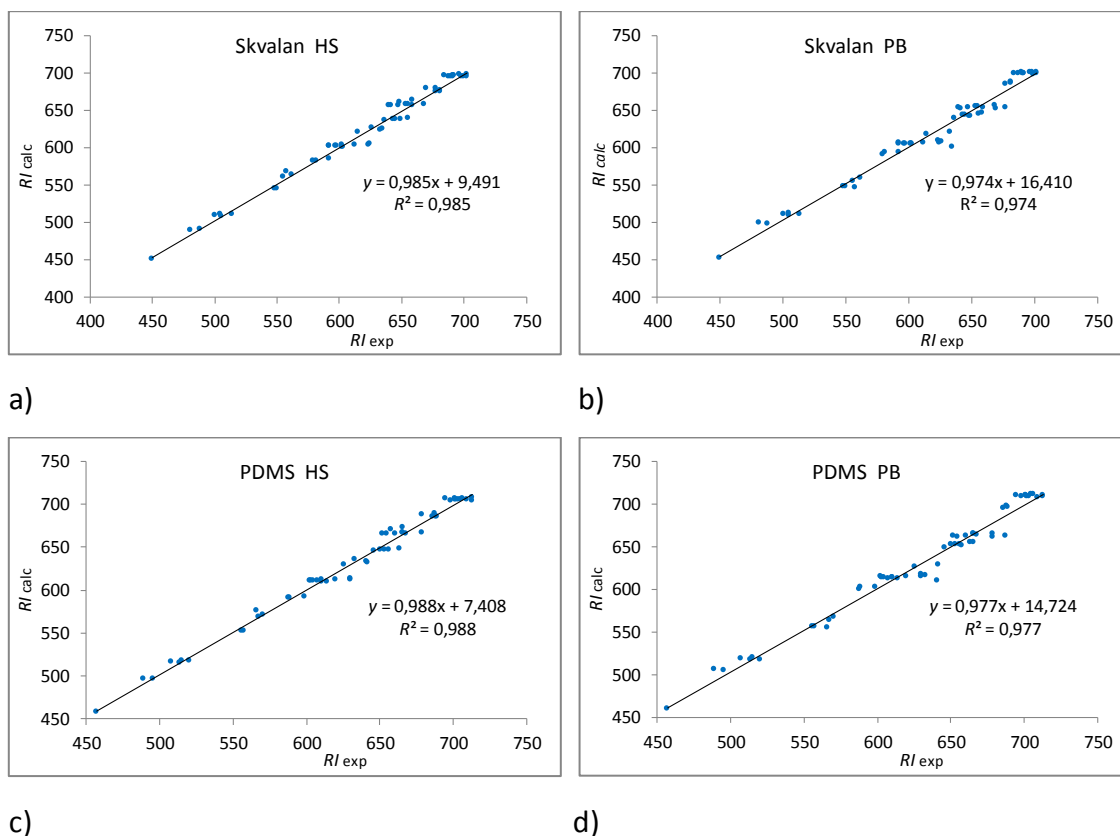
(model PB $R^2 = 0,977$; $F = 1171$; $SE(RI) = 10,1$; $Q^2 = 0,975$; $n = 59$)

Rovnice (3.4.1.10) až (3.4.1.13) popisují retenci alkenů pomocí dvou proměnných deskriptorů. Význam symbolů a statistiky je stejný jako v předchozích rovnicích. Vypočtené hodnoty retence oběma modely jsou uvedeny v tabulce P9. V porovnání s rovnicemi (3.4.1.3) až (3.4.1.6) a (3.4.1.8), (3.4.1.9) je patrné, že při použití dvou deskriptorů k odhadu retence je hodnota F -statistiky nižší, než v případě pouze jednoho deskriptoru L . Na druhou stranu, hodnoty Q^2 a $SE(RI)$ se mírně zlepšily zavedením dvou deskriptorů. Celkově lze říci, že k popisu retence je vhodnější model s oběma deskriptory L , E . Poskytuje větší selektivitu interakcí zastoupením dvou proměnných a podle statistického hodnocení významnosti deskriptorů vykazuje lepší charakteristiky (F -test významnosti modelu přidáním proměnné (kap. 1.2.3).

Podle velikosti regresních koeficientů je patrné, že rozhodující vliv na retenci má člen IL . Velikost konstantního členu c v rovnicích je zhruba stejná, jak v případě modelu s jedním deskriptorem, tak u dvou-deskriptorového modelu. Podobně jako v rovnicích (3.4.1.3) až (3.4.1.6) a (3.4.1.8), (3.4.1.9), u obou modelů byla retence na PDMS o trochu lépe popsána, než v případě skvalanu.

Na základě rovnic (3.4.1.10) až (3.4.1.13) lze obecně říci, že model HS dává lepší výsledky v popisu retence na obou stacionárních fázích, než model PB. F -statistika nabývá podstatně vyšších hodnot a chyba odhadu $SE(RI)$ je téměř o 3 jednotky nižší u modelu HS. Použití deskriptoru $L_{HS \text{ no cis}}$ rovněž ukázalo lepší popis retence v porovnání s původním deskriptorem L_{HS} . Model PB poskytuje vyšší hodnoty regresních koeficientů ve členech IL a eE popisujících selektivní interakce a menší hodnotu konstanty c , v porovnání s modelem HS v rovnicích (3.4.1.10) až (3.4.1.13). Model PB vykazuje sice horší schopnost odhadu retence, ale popisuje větší podíl selektivních interakcí.

Dále byly hodnoty vypočtené retence oběma modely porovnány s experimentální retencí a graficky znázorněny (obr. 9a,b,c,d).



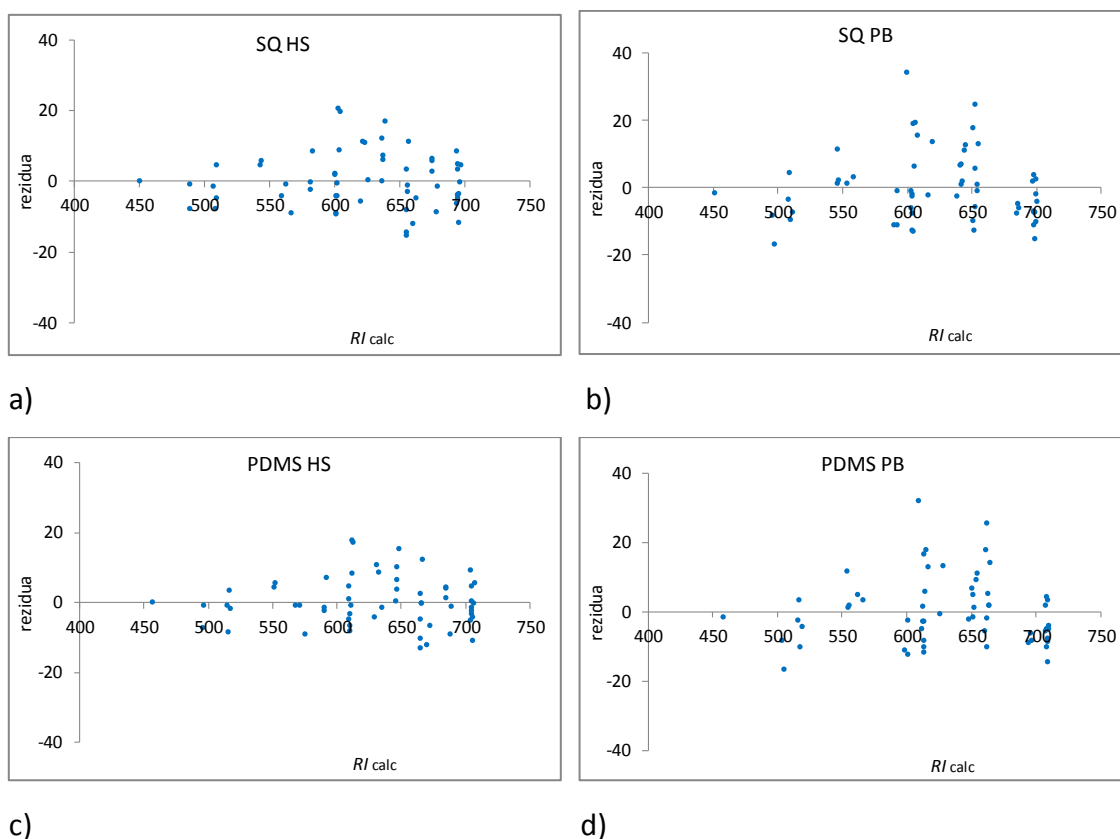
Obr. 9a,b,c,d)

Porovnání vypočtené retence (RI_{calc}) s naměřenou retencí (RI_{exp}) pomocí dvou-deskriptorového modelu:

- a) retence na skvalanu počítaná modelem HS,
- b) retence na skvalanu počítaná modelem PB,
- c) retence na PDMS počítaná modelem HS,
- d) retence na PDMS počítaná modelem PB.

V grafech na obr. 9 je zajímavé rozložení bodů, které jsou místy uspořádány do pásů. Tyto vodorovné pásy zahrnují body s podobnou hodnotou vypočtené retence. Dané rozložení je pravděpodobně způsobené velmi blízkou hodnotou vypočteného deskriptoru L pro určité alkeny (tab. P8). Výrazněji jsou takto uspořádané body v grafech modelu PB, patrně způsobené menším počtem jednotlivých příspěvků metody PB, použitých pro výpočet deskriptoru L (tab. 7). Také zde je v grafech 9a) a c) zřejmé rovnoměrnější uspořádání bodů a jejich menší rozptyl od přímky u modelu HS. Rozložení látek podle vzrůstající absolutní hodnoty reziduí je náhodné, nelze říci, že by některý typ alkenů měl vyšší rezidua, než ostatní typy.

Pro oba modely na stacionárních fázích skvalanu a PDMS převažuje mírně počet alkenů se zápornými rezidui (počet bodů pod osou x), naopak látky s kladnými rezidui jsou v menším počtu, ale s větší hodnotou, jak je patrné z grafů na obr. 10. Menší hodnoty reziduí pro model HS jsou zřejmé v uvedených grafech. Rovněž je vidět rozložení bodů do pásů, podobně jak bylo popsáno v grafu obr. 9.



Obr. 10 a,b,c,d)

Hodnoty reziduí odhadu retence alkenů ($RI_{exp} - RI_{calc}$) na skvalanu a PDMS podle modelu HS (rovnice (3.4.1.10) a (3.4.1.12) a modelu PB (rovnice (3.4.1.11) a (3.4.1.13):

- a) odhad retence na skvalanu modelem HS,
- b) odhad retence na skvalanu modelem PB,
- c) odhad retence na PDMS modelem HS,
- d) odhad retence na PDMS modelem PB.

Všechny uvedené rovnice pro odhad retence alkenů splňovaly podmínky platnosti regresního modelu, z hlediska významnosti proměnných a multikolinearity. Analýza reziduí prokázala homoskedasticitu, tedy náhodné rozdělení a nezávislost reziduí.

Závěrem této kapitoly lze shrnout:

podle odhadových metod Havelec-Ševčík (HS) a Platts-Butina (PB) byly vypočteny deskriptory L_{HS} a L_{PB} pro všechny C5-C7 alkeny. Na základě těchto deskriptorů byl sestaven model HS a model PB k odhadu retence. Dále byl vypočten deskriptor E ze znalosti indexu lomu a McGowanova charakteristického objemu V_x alkenů. Modely HS a PB byly následně použity k popisu retence C5-C7 alkenů. Podle analýzy reziduí jednotlivých látek, byla zjištěna vyšší chyba odhadu retence pro cis izomery alkenů, počítané modelem HS. Po vyloučení příspěvku cis interakce z deskriptoru L_{HS} byla vypočtena nová hodnota $L_{HS \text{ no cis}}$ pro všechny alkeny. Takto upravený model HS poskytoval podstatně lepší odhad retence, než původní model. Retence všech 59 alkenů byla počítána rovnicemi s jedním deskriptorem (L) a poté s oběma deskriptory (L, E). V obou případech se model HS ukázal vhodnější k odhadu retence. Celkově dvou-deskriptorový model lépe popisoval retenci C5-C7 alkenů.

3.4.2 Popis retence C8 alkenů

Podobně jako v předchozí kapitole (3.4.1), byly vypočteny deskriptory L_{HS} , L_{PB} a E_{calc} včetně upraveného $L_{HS \text{ no cis}}$. V tabulce P10 je uveden seznam všech oktenů a vypočtené hodnoty deskriptorů L_{HS} , $L_{HS \text{ no cis}}$, L_{PB} a E_{calc} . Databáze experimentálních hodnot deskriptorů programu ADME Absolv 2.0 obsahuje pouze 6 oktenů se známými deskriptory. Jejich hodnoty jsou znázorněny v tabulce P11. Zmíněný soubor 6 látek je příliš malý pro optimalizaci počtu proměnných v regresním modelu, určeného k odhadu retence všech 93 oktenů.

K popisu retence oktenů byl navíc použit další model, založený na vypočtených deskriptorech pomocí programu ADME Absolv 2.0. Jedná se o možnost srovnání původních modelů HS a PB s dalším přístupem pro výpočet solvatačních deskriptorů a

odhad retence. Vypočtené deskriptory programem ADME Absolv 2.0, označené jako ADME calc, jsou rovněž uvedeny v tabulce P10. Experimentální hodnoty retence oktenů na stacionární fázi skvalan a PDMS jsou zahrnuty v tabulce P12.

Byla provedena korelační analýza mezi vypočtenými deskriptory jednotlivých modelů. V případě deskriptoru L_{HS} a E_{calc} byla korelace $R = 0,561$ ($VIF = 1,46$) a mezi deskriptorem L_{PB} a E_{calc} byla korelace $R = 0,391$ ($VIF = 1,18$). Pro upravený deskriptor $L_{HS\ no\ cis}$ byla korelace s E_{calc} $R = 0,574$ ($VIF = 1,49$). Na základě uvedených hodnot, dané deskriptory nevykazují vzájemné korelace (kolinearitu), které by překračovaly kritickou hodnotu ($VIF = 10$). V porovnání s C5-C7 alkeny, je patrný nárůst korelace mezi vypočtenými deskriptory L , E oktenů. V případě skupiny čtyř deskriptorů ADME calc byly nalezeny vyšší hodnoty korelace mezi deskriptory, zobrazené souhrnně v tabulce 9.

Tabulka 9

Korelační matice deskriptorů vypočtených programem ADME Absolv 2.0 ($L_{adme\ calc}$, $E_{adme\ calc}$, $S_{adme\ calc}$, $B_{adme\ calc}$). V tabulce jsou uvedeny hodnoty korelačního koeficientu dvojic deskriptorů.

Korelace	$L_{adme\ calc}$	$E_{adme\ calc}$	$S_{adme\ calc}$	$B_{adme\ calc}$
$L_{adme\ calc}$	1			
$E_{adme\ calc}$	0,641	1		
$S_{adme\ calc}$	0,867	0,897	1	
$B_{adme\ calc}$	-0,624	0,099	-0,329	1

Vzhledem k vysokým hodnotám korelačního koeficientu v tabulce 9, byly vypočteny hodnoty VIF pro každý deskriptor. Byla prokázána významná multikolinearita: $VIF(L) = 8,91$; $VIF(E) = 51,73$; $VIF(S) = 54,01$; $VIF(B) = 14,30$. Na základě vzájemné závislosti deskriptorů ADME calc, není možné tyto proměnné v dané sestavě použít k MLR. Je nutné najít takovou kombinaci deskriptorů, která nebude vykazovat multikolinearitu a bude splňovat podmínky regresního modelu.

Dále byly získány hodnoty korelace mezi retencí všech alkenů (RI) a vypočtenými deskriptory L_{HS} , $L_{HS \text{ no cis}}$, L_{PB} , E_{calc} a také deskriptory (L , E , S , B) ADME calc. Uvedené hodnoty korelace jsou znázorněny v tabulce 10.

Tabulka 10

Hodnoty korelačního koeficientu odpovídající korelaci retenčních indexů oktenů (tab. P12) a jednotlivých deskriptorů (tab. P10).

Korelace	L_{HS}	$L_{HS \text{ no cis}}$	L_{PB}	E_{calc}	$L_{adme \text{ calc}}$	$E_{adme \text{ calc}}$	$S_{adme \text{ calc}}$	$B_{adme \text{ calc}}$
RI, SQ	0,828	0,873	0,863	0,597	0,640	0,070	0,324	-0,600
$RI, PDMS$	0,863	0,905	0,889	0,613	0,649	0,093	0,335	-0,573

Podle hodnot v tab. 10 je patrný rozhodující vliv deskriptoru L na retenci alkenů. Porovnáním s C5-C7 alkeny, deskriptor E_{calc} má významnější závislost s retencí. V případě deskriptoru $L_{adme \text{ calc}}$ jsou hodnoty korelace s retencí podstatně nižší, než u L_{HS} , $L_{HS \text{ no cis}}$ a L_{PB} . Ostatní deskriptory ADME calc prokazují mírnou až střední korelaci s retencí. Zajímavý je výrazný rozdíl v korelaci retence s vypočtenými deskriptory E , například RI_{SQ} vs. E_{calc} ($R=0,597$) a RI_{SQ} vs. $E_{adme \text{ calc}}$ ($R=0,070$).

Na základě korelací uvedených v tab. 10, byl deskriptor L použit jako hlavní proměnná k formulaci regresního modelu. Podobně jako v předchozí kapitole, deskriptor $L_{HS \text{ no cis}}$ se ukázal vhodnější pro popis retence v porovnání s původním L_{HS} . V regresních rovnicích modelu HS bude dále používán pouze $L_{HS \text{ no cis}}$. Nejdříve byla provedena MLR mezi retenčním indexem všech 93 oktenů a deskriptorem L , podobně jako v kapitole 3.4.1. Takto byly vytvořeny tři LSER modely: model HS, model PB a model ADME calc s deskriptorem $L_{adme \text{ calc}}$.

$$RI_{calc \text{ SQ}} = 149,2(\pm 8,8)L_{HS \text{ no cis}} + 228,9(\pm 30,5) \quad (3.4.2.1)$$

(model HS $R^2 = 0,761$; $F = 290$; $SE(RI) = 13,2$; $Q^2 = 0,750$; $n = 93$)

$$RI_{calc \text{ SQ}} = 132,6(\pm 8,1)L_{PB} + 292,5(\pm 28,0) \quad (3.4.2.2)$$

(model PB $R^2 = 0,745$; $F = 266$; $SE(RI) = 13,7$; $Q^2 = 0,733$; $n = 93$)

$$RI_{\text{calc SQ}} = 132,8(\pm 16,7)L_{\text{adme calc}} + 287,0(\pm 58,2) \quad (3.4.2.3)$$

(model ADME calc $R^2 = 0,410$; $F = 63$; $SE(RI) = 20,8$; $Q^2 = 0,386$; $n = 93$)

$$RI_{\text{calc PDMS}} = 157,2(\pm 7,7)L_{\text{HS no cis}} + 211,4(\pm 27,0) \quad (3.4.2.4)$$

(model HS $R^2 = 0,820$; $F = 413$; $SE(RI) = 11,7$; $Q^2 = 0,811$; $n = 93$)

$$RI_{\text{calc PDMS}} = 138,7(\pm 7,5)L_{\text{PB}} + 281,9(\pm 25,8) \quad (3.4.2.5)$$

(model PB $R^2 = 0,790$; $F = 343$; $SE(RI) = 12,6$; $Q^2 = 0,780$; $n = 93$)

$$RI_{\text{calc PDMS}} = 136,9(\pm 16,8)L_{\text{adme calc}} + 283,4(\pm 58,5) \quad (3.4.2.6)$$

(model ADME calc $R^2 = 0,422$; $F = 66$; $SE(RI) = 20,9$; $Q^2 = 0,398$; $n = 93$)

V rovnicích (3.4.2.1) až (3.4.2.6) je $RI_{\text{calc SQ}}$ vypočtený retenční index alkenů na skvalanu, $RI_{\text{calc PDMS}}$ vypočtený retenční index alkenů na PDMS, hodnoty v závorkách (\pm) jsou chyby odhadu regresních koeficientů, dále R^2 je koeficient determinace, F je hodnota Fisherovy F -statistiky, $SE(RI)$ označuje směrodatnou odchylku odhadu závisle proměnné (RI), Q^2 je predikovaný koeficient determinace (R^2_{cv}) a n je počet bodů (látek) v regresi.

Podle uvedených rovnic, model HS poskytuje o trochu lepší popis retence v porovnání s modelem PB, podobně jako v předchozí kapitole. Nicméně rozdíl mezi oběma modely je méně výrazný, než u C5-C7 alkenů. Model HS vykazuje větší regresní koeficient l a menší konstantu c , pokrývá tak vyšší podíl selektivních interakcí ve srovnání s PB.

Na základě MLR statistiky rovnic (3.4.2.3) a (3.4.2.6), odhad retence pomocí deskriptoru ADME calc ukazuje podstatně horší výsledky oproti předchozím modelům HS a PB. Číselné hodnoty regresních koeficientů l a konstanty c modelu ADME calc jsou poměrně blízké modelu PB.

V dalším kroku byly použity oba deskriptory L a E pro popis retence. MLR analýza retence a deskriptorů poskytla následující LSER rovnice pro jednotlivé modely:

$$RI_{\text{calc SQ}} = 135,2(\pm 10,4)L_{\text{HS no cis}} + 103,6(\pm 44,3)E_{\text{calc}} + 264,6(\pm 33,5) \quad (3.4.2.7)$$

(model HS $R^2 = 0,775$; $F = 155$; $SE(RI) = 12,9$; $Q^2 = 0,757$; $n = 93$)

$$RI_{\text{calc SQ}} = 114,2(\pm 7,4)L_{\text{PB}} + 222,2(\pm 34,8)E_{\text{calc}} + 327,5(\pm 24,0) \quad (3.4.2.8)$$

(model PB $R^2 = 0,825$; $F = 212$; $SE(RI) = 11,4$; $Q^2 = 0,810$; $n = 93$)

$$RI_{\text{calc PDMS}} = 143,3(\pm 9,2)L_{\text{HS no cis}} + 102,5(\pm 38,8)E_{\text{calc}} + 246,7(\pm 29,3) \quad (3.4.2.9)$$

(model HS $R^2 = 0,833$; $F = 224$; $SE(RI) = 11,3$; $Q^2 = 0,757$; $n = 93$)

$$RI_{\text{calc PDMS}} = 119,6(\pm 6,4)L_{\text{PB}} + 231,1(\pm 30,0)E_{\text{calc}} + 318,2(\pm 20,7) \quad (3.4.2.10)$$

(model PB $R^2 = 0,874$; $F = 311$; $SE(RI) = 9,8$; $Q^2 = 0,863$; $n = 93$)

V rovnicích (3.4.2.7) až (3.4.2.10) je význam jednotlivých členů a statistiky stejný jako v předchozích vztazích. Vypočtené hodnoty retence $RI_{\text{calc PDMS}}$ a $RI_{\text{calc SQ}}$ podle modelů HS a PB jsou uvedeny v tabulce P12. Dvou-deskriptorový LSER model poukázal na rozdíly mezi studovanými modely HS, PB a ADME calc. Model PB celkově poskytl lepší popis retence ve srovnání s modelem HS. Zajímavá je rozdílná velikost regresních koeficientů I , e pro jednotlivé modely. Zatímco v případě C5-C7 alkenů v regresních rovnicích dominoval koeficient I , u oktenů je poměr velikosti koeficientů I , e odlišný. Model HS má koeficienty I , e zhruba stejné velikosti, ale v modelu PB koeficient e převyšuje téměř dvojnásobně koeficient I .

Model ADME calc ukazuje odlišné charakteristiky ve srovnání s modely HS a PB. Jak bylo zmíněno na začátku této kapitoly, deskriptory ADME calc vykazují vzájemnou závislost (multikolinearitu). Zde je potřeba zvolit vhodné deskriptory pro optimální regresní model. Podle výsledků provedeného testu VIF je možné použít jako proměnné pouze následující kombinace deskriptorů ADME calc: $(L-S-B)$, $(L-E)$, $(L-S)$ a $(L-B)$. MLR analýza ukázala nevýznamnost regresního koeficientu b v kombinaci proměnných $(L-S-B)$. Jsou tedy možné pouze modely s dvěma deskriptory. Rovnice s proměnnými $(L-B)$ poskytuje horší popis retence v porovnání s ostatními dvou-deskriptorovými modely. Kombinace deskriptorů $(L-S)$ udává jejich vzájemnou korelaci $R = 0,867$ ($VIF = 4,03$).

Kolinearita L , S ještě není prokázána, ale vyjadřuje určitou závislost proměnných. Jako optimální tedy vychází model s deskriptory (L - E) ($R = 0,641$ a $VIF = 1,70$), který má jen o trochu menší schopnost popisu retence ($F = 69$; $SE(RI) = 17,1$; $Q^2 = 0,578$), než předchozí rovnice (L - S) ($F = 75$; $SE(RI) = 16,7$; $Q^2 = 0,595$). Uvedené srovnání platí pro retenci na skvalanu, v případě PDMS jsou statistické parametry podobné. Zde jsou znázorněny regresní rovnice modelu ADME calc:

$$RI_{\text{calc SQ}} = 209,5(\pm 17,9)L_{\text{adme calc}} - 710,5(\pm 106,2)E_{\text{adme calc}} + 114,4(\pm 54,3) \quad (3.4.2.11)$$

(model ADME calc $R^2 = 0,606$; $F = 69$; $SE(RI) = 17,1$; $Q^2 = 0,578$; $n = 93$)

(Heteroskedastický model)

$$RI_{\text{calc PDMS}} = 210,7(\pm 18,3)L_{\text{adme calc}} - 684,4(\pm 108,9)E_{\text{adme calc}} + 117,1(\pm 55,7) \quad (3.4.2.12)$$

(model ADME calc $R^2 = 0,598$; $F = 67$; $SE(RI) = 17,5$; $Q^2 = 0,570$; $n = 93$)

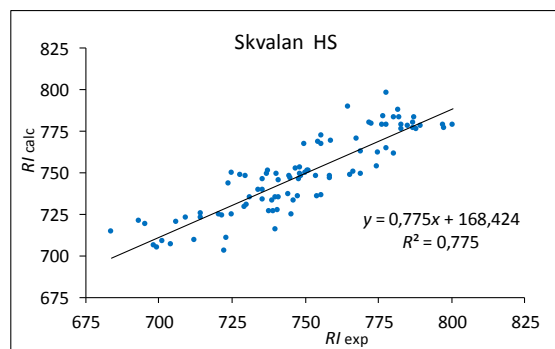
(Heteroskedastický model)

Na základě statistiky rovnic (3.4.2.11) a (3.4.2.12), popis retence modelem ADME calc se zlepšil zavedením obou deskriptorů L , E . V uvedených rovnicích je patrný výrazně odlišný člen eE ve srovnání s modely HS a PB. Koeficient e zde nabývá vysokých záporných hodnot, na rozdíl od předchozích modelů. Důvodem může být nepřesná hodnota $E_{\text{ADME calc}}$ odhadnutá programem ADME Absolv 2.0. Korelace $E_{\text{ADME calc}}$ a E_{calc} ($R = -0,274$) je velmi malá a navíc záporného znaménka, tedy neprokazující souvislost obou hodnot. Rovněž korelace $E_{\text{ADME calc}}$ s retencí oktenů je nízká (tab. 10). Na druhou stranu, deskriptor E_{calc} lze považovat za poměrně přesný, neboť je počítán přímo podle jeho definice.

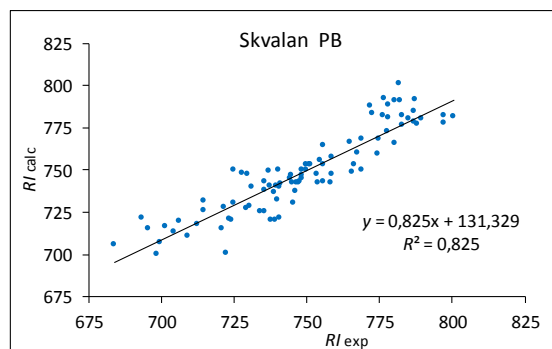
I přesto, že všechny regresní koeficienty jsou platné a model ADME calc má vyšší schopnost odhadu retence v porovnání s jedno-deskriptorovým modelem, rovnice (3.4.2.11) a (3.4.2.12) nelze použít k popisu retence oktenů. Model ADME calc nesplňuje podmínky platnosti regresního modelu (kap. 1.2.2), neboť jeho rezidua nejsou homoskedastická. Téměř všechny testy reziduí uvedené v kap. (1.2) prokázaly statisticky významnou heteroskedasticitu, mírně překračující kritické hodnoty testů. Ostatní uvedené dvou-deskriptorové modely ADME calc rovněž vykazují heteroskedasticitu. Statisticky vyhovující je pouze jedno-deskriptorový model ADME

(rovnice (3.4.2.3) a (3.4.2.6)), který ale poskytuje poměrně slabou schopnost popisu retence, ve srovnání s modely HS a PB.

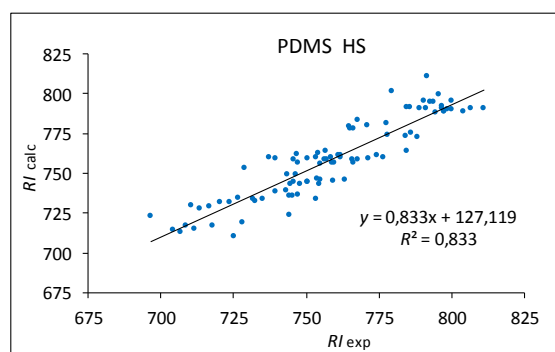
Modely HS a PB se ukázaly jako platné z hlediska předpokladů regresního modelu, analýza jejich reziduí potvrdila homoskedasticitu. Dále byly hodnoty vypočtené retence všech modelů podle rovnic (3.4.2.7) až (3.4.2.12) porovnány s experimentální retencí (tab. P12) a graficky znázorněny na obr. 11a-f).



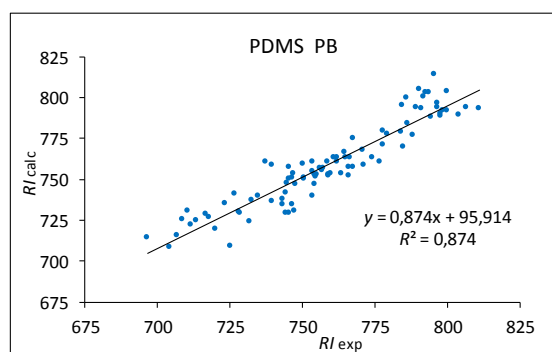
a)



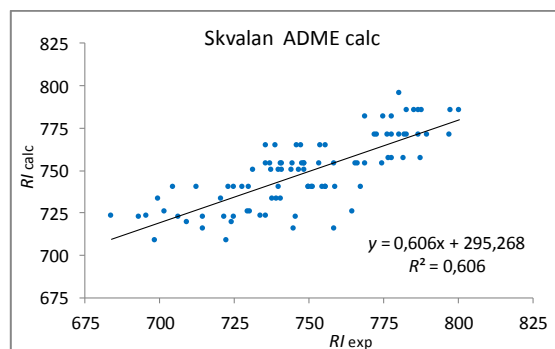
b)



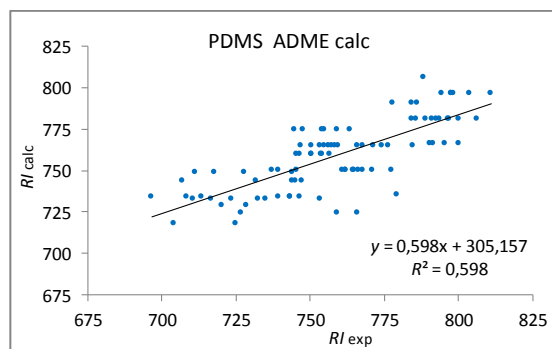
c)



d)



e)



f)

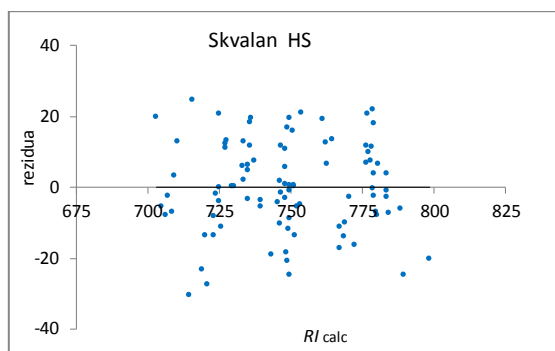
Obr. 11a-f)

Porovnání vypočtené retence ($R_{I\text{ calc}}$) s naměřenou retencí ($R_{I\text{ exp}}$) pomocí dvou-deskriptorového modelu:

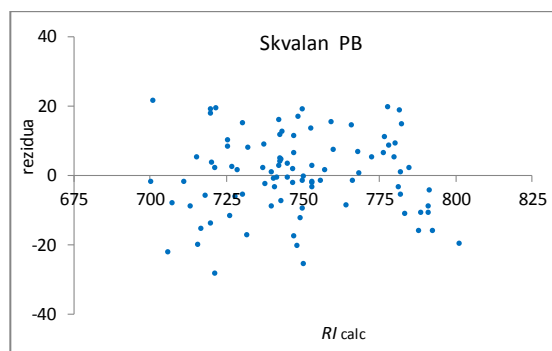
- a) retence na skvalanu počítaná modelem HS,
- b) retence na skvalanu počítaná modelem PB,
- c) retence na PDMS počítaná modelem HS,
- d) retence na PDMS počítaná modelem PB,
- e) retence na skvalanu počítaná modelem ADME calc (heteroskedastický model),
- f) retence na PDMS počítaná modelem ADME calc (heteroskedastický model)

V grafech (obr. 11a-d) je zřejmý o trochu menší rozptyl bodů od proložené přímky pro model PB, celkově uspořádání bodů v obou modelech nevykazuje podobu vodorovných pásů hodnot, tak jako u C5-C7 alkenů (kap. 3.4.1). Možným důvodem je vyšší korelace deskriptoru E_{calc} s retencí oktenů a větší významnost členu eE v LSER rovnicích (3.4.2.7) až (3.4.2.10), na rozdíl od modelů pro C5-C7 alkeny. V případě oktenů člen eE výrazněji přispívá k selektivitě interakcí. Tedy v grafech (obr. 11a-d) se nevyskytuje tolik bodů se stejnou vypočtenou retencí ($R_{I\text{ calc}}$), způsobenou totožnou hodnotou deskriptoru L pro dané alkeny. Pro názornost je zobrazen i model ADME calc (obr. 11e,f), vykazující patrně větší rozptyl bodů od proložené přímky, v porovnání s předchozími modely.

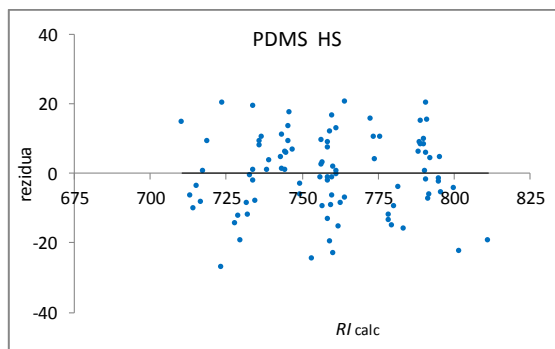
Na obr. 12a-f) jsou znázorněny rezidua pro jednotlivé modely, popsané rovnicemi (3.4.2.7) až (3.4.2.12). Rozložení bodů v grafech 12a-d) je víceméně náhodné (tvar oblaku), u modelu HS jsou málo patrné svislé pásy hodnot s podobnou vypočtenou retencí.



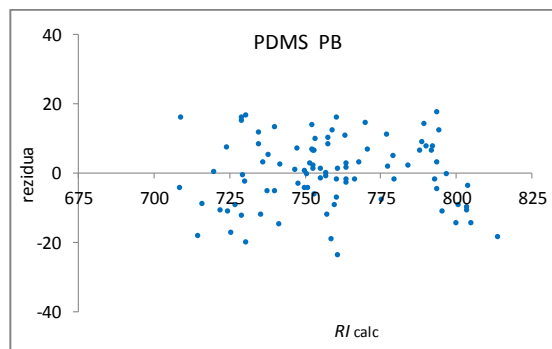
a)



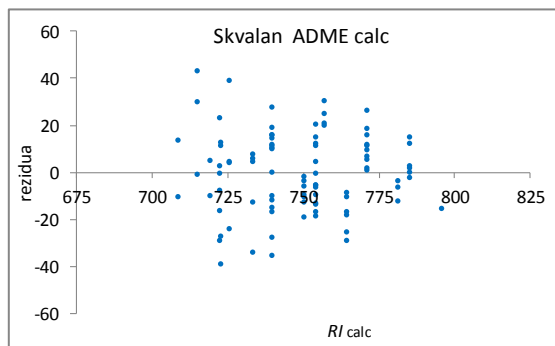
b)



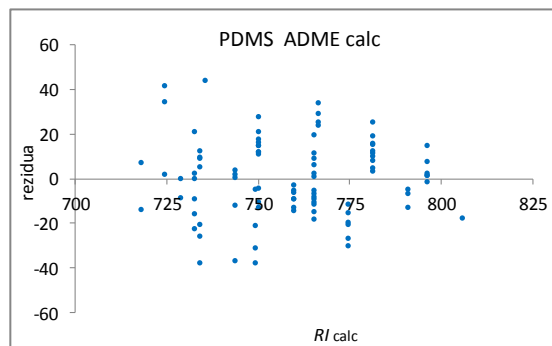
c)



d)



e)



f)

Obr. 12a-f)

Hodnoty reziduí vypočtené retence oktenů ($RI_{exp} - RI_{calc}$) podle rovnic (3.4.2.7) až (3.4.2.12) pro:

- a) odhad retence na skvalanu modelem HS,
- b) odhad retence na skvalanu modelem PB,
- c) odhad retence na PDMS modelem HS,
- d) retence na PDMS modelem PB,
- e) odhad retence na skvalanu modelem ADME calc (heteroskedastický model),
- f) odhad retence na PDMS modelem ADME calc (heteroskedastický model)

V případě modelu ADME calc (obr. 12e,f), který vykazuje heteroskedasticitu, jsou hodnoty reziduí uspořádány téměř výhradně do pravidelných svislých pásů. Celkově oblast bodů v grafech má mírně klínovitý tvar, charakteristický pro heteroskedastický model. Náhodné a nezávislé rozložení reziduí, jako předpoklad platnosti regresního modelu, nelze v případě modelu ADME calc (obr. 12e,f) potvrdit.

Závěrem této kapitoly lze shrnout, že model PB s použitím deskriptorů L_{PB} a E_{calc} poskytl nejlepší popis retence 93 oktenů, ve srovnání s ostatními modely. Dvou-deskriptorový LSER model pro popis retence oktenů ukázal výraznější rozdíly mezi modely HS a PB, především ve velikosti regresních koeficientů a významu jednotlivých členů rovnice. Opět se prokázalo výhodnější použití modelu HS bez příspěvku cis interakce. Porovnáním s ostatními proměnnými, deskriptor $L_{HS \text{ no cis}}$ nejlépe koreloval s retencí oktenů, lze jej považovat za optimální proměnnou v jedno-deskriptorovém modelu.

Model ADME calc, počítaný pomocí deskriptorů odhadnutých programem ADME Absolv 2.0, se ukázal jako nevyhovující. Korelace deskriptorů ADME calc s retencí oktenů byla poměrně nízká. Silné závislosti mezi deskriptory a heteroskedasticita reziduí neumožňují použití více proměnných v regresním modelu ADME calc.

3.4.3 Popis retence skupiny C5-C8 alkenů

V poslední části kapitoly je věnována pozornost popisu retence všech C5-C8 alkenů, zahrnující celkem 152 sloučenin. Jak bylo uvedeno v úvodu (kap. 3.1), retenční data této skupiny látek pocházejí ze dvou samostatných experimentů, měřené skupiny C5-C7 alkenů a skupiny C8 alkenů. Poněvadž uvedená data byla získána za stejných experimentálních podmínek, lze obě skupiny v rámci MLR spojit dohromady a zpracovat jako jednotný soubor. Postup vyhodnocení dat byl podobný jako v předchozích kapitolách. Pro popis retence alkenů C5-C8 byly použity pouze modely HS a PB, neboť model ADME calc (kap. 3.4.3) se ukázal jako méně vyhovující. Retenční data 152 alkenů a jejich deskriptory jsou zobrazeny v tabulkách P9 a P12.

Byla provedena korelační analýza mezi vypočtenými deskriptory jednotlivých modelů pro zjištění nezávislosti proměnných. V případě deskriptoru L_{HS} a E_{calc} byla korelace $R = 0,347$ ($VIF = 1,14$) a mezi deskriptorem L_{PB} a E_{calc} byla korelace $R = 0,303$ ($VIF = 1,10$). Pro upravený deskriptor $L_{HS \text{ no cis}}$ byla korelace s E_{calc} $R = 0,338$ ($VIF = 1,13$). Na základě uvedených hodnot, dané deskriptory nevykazují vzájemnou závislost (kolinearitu), která by překračovala kritickou hodnotu ($VIF = 10$).

Dále byly vypočteny hodnoty korelací mezi retencí všech alkenů (RI) a jednotlivými deskriptory, uvedené v tabulce 11. Na základě hodnot korelačních koeficientů je opět patrný rozhodující vliv deskriptoru L na retenci alkenů, jako v předchozích kapitolách. Hodnoty korelace retence C5-C8 alkenů a jejich deskriptorů jsou více podobné skupině 59 alkenů C5-C7, než početnější skupině 93 oktenů. To je patrně způsobeno větším rozsahem hodnot retence pro C5-C7 alkeny ($RI \approx 450$ až 700), než v případě oktenů ($RI \approx 680$ až 810).

Tabulka 11

Hodnoty korelačního koeficientu odpovídající korelaci retenčních indexů C5-C8 alkenů (tab. P9 a P12) a jednotlivých deskriptorů (tab. P8 a P10).

Korelace	L_{HS}	$L_{HS \text{ no cis}}$	L_{PB}	E_{calc}
RI, SQ	0,978	0,987	0,981	0,345
$RI, PDMS$	0,982	0,990	0,984	0,349

Na základě uvedených korelací v tabulce 11, byl deskriptor L použit jako hlavní proměnná v regresním modelu. Rovněž pro C5-C8 alkeny se deskriptor $L_{HS \text{ no cis}}$ ukázal vhodnější k popisu retence, porovnáním s původním L_{HS} . V regresních rovnicích modelu HS bude dále používán pouze $L_{HS \text{ no cis}}$. Nejdříve byla provedena MLR mezi retenčním indexem všech 152 alkenů a deskriptorem L , podobně jako v kapitolách 3.4.1 a 3.4.2:

$$RI_{calc \text{ SQ}} = 183,8(\pm 2,4)L_{HS \text{ no cis}} + 107,7(\pm 7,9) \quad (3.4.3.1)$$

(model HS $R^2 = 0,974$; $F = 5709$; $SE(RI) = 12,3$; $Q^2 = 0,974$; $n = 152$)

$$RI_{\text{calc SQ}} = 189,3(\pm 3,1)L_{\text{PB}} + 95,2(\pm 9,9) \quad (3.4.3.2)$$

(model PB $R^2 = 0,962$; $F = 3743$; $SE(RI) = 15,1$; $Q^2 = 0,961$; $n = 152$)

$$RI_{\text{calc PDMS}} = 186,2(\pm 2,1)L_{\text{HS no cis}} + 109,8(\pm 6,9) \quad (3.4.3.3)$$

(model HS $R^2 = 0,981$; $F = 7579$; $SE(RI) = 10,9$; $Q^2 = 0,980$; $n = 152$)

$$RI_{\text{calc PDMS}} = 191,7(\pm 2,9)L_{\text{PB}} + 97,3(\pm 9,3) \quad (3.4.3.4)$$

(model PB $R^2 = 0,967$; $F = 4421$; $SE(RI) = 14,1$; $Q^2 = 0,966$; $n = 152$)

V rovnicích (3.4.3.1) až (3.4.3.4) je $RI_{\text{calc SQ}}$ vypočtený retenční index alkenů na skvalanu, $RI_{\text{calc PDMS}}$ vypočtený retenční index alkenů na PDMS, hodnoty v závorkách (\pm) jsou chyby odhadu regresních koeficientů, dále R^2 je koeficient determinace, F je hodnota Fisherovy F -statistiky, $SE(RI)$ označuje směrodatnou odchylku odhadu závisle proměnné (RI), Q^2 je predikovaný koeficient determinace (R^2_{cv}) a n je počet bodů (látek) v regresi.

Podle uvedených rovnic, model HS poskytuje lepší popis retence v porovnání s modelem PB, podobně jako v předchozí kapitole. Rozdíl mezi oběma modely je výraznější, než u skupiny oktenů. Model PB vykazuje větší regresní koeficient I a menší konstantu c , pokrývá tak vyšší podíl selektivních interakcí ve srovnání s HS.

Dále byla ověřena platnost regresních modelů v rovnicích (3.4.3.1) až (3.4.3.4). Byla provedena analýza reziduí podle testů homoskedasticity uvedených v kap. 1.2.2, pomocí 5 použitých testů: Znaménkový test náhodnosti reziduí, Glejserův test závislosti reziduí, Whiteův test závislosti reziduí, F -test podobnosti dvou polovin reziduí a Goldfeld-Quandtův test. Na základě výsledků nelze jednoznačně rozhodnout o heteroskedasticitě modelů, neboť v případě modelu HS pouze dva testy z pěti prokázaly heteroskedasticitu, u modelu PB byla prokázána heteroskedasticita třemi testy z pěti. Výsledné hodnoty se u většiny testů pohybují blízko kritických hodnot. V tabulce 12 jsou uvedeny výsledky provedených testů.

Tabulka 12

Seznam provedených testů homoskedasticity a jejich výsledné hodnoty pro jedno-deskriptorové modely HS a PB. Znázornění kritických hodnot pro zvolené testy na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ (hodnota testu vyšší než kritická hodnota prokazuje heteroskedasticitu, tyto hodnoty jsou zvýrazněny tučným písmem).

Test homoskedasticity	Výsledné hodnoty testů				Kritická hodnota
	HS _{SQ}	HS _{PDMS}	PB _{SQ}	PB _{PDMS}	
Znaménkový test náhodnosti reziduí	4,33	5,47	5,01	6,04	$U = 1,96$
Glejserův test závislosti reziduí	2,82	2,81	0,42	0,38	$F_{0,95(1;150)} = 3,90$
Whiteův test závislosti reziduí	1,58	1,36	1,85	1,82	$F_{0,95(5;146)} = 2,28$
F-test podobnosti polovin reziduí	1,10	1,21	1,98	2,03	$F_{0,975(75;75)} = 1,58$
Goldfeld-Quandtův test	1,64	1,82	2,34	2,14	$F_{0,975(68;68)} = 1,62$

V dalším kroku byly použity oba deskriptory L a E pro popis retence, uvedené v následujících LSER rovnicích:

$$RI_{\text{calc SQ}} = 183,0(\pm 2,6) L_{\text{HS no cis}} + 26,0(\pm 28,9) E_{\text{calc}} + 107,0(\pm 7,9) \quad (3.4.3.5)$$

(model HS $R^2 = 0,975$; $F = 2851$; $SE(RI) = 12,4$; $Q^2 = 0,974$; $n = 152$)

(Heteroskedastický model)

$$RI_{\text{calc SQ}} = 186,2(\pm 3,1) L_{\text{PB}} + 109,8(\pm 33,9) E_{\text{calc}} + 91,4(\pm 9,7) \quad (3.4.3.6)$$

(model PB $R^2 = 0,964$; $F = 1995$; $SE(RI) = 14,7$; $Q^2 = 0,963$; $n = 152$)

(Heteroskedastický model)

$$RI_{\text{calc PDMS}} = 185,2(\pm 2,3) L_{\text{HS no cis}} + 32,7(\pm 25,3) E_{\text{calc}} + 108,9(\pm 7,0) \quad (3.4.3.7)$$

(model HS $R^2 = 0,981$; $F = 3807$; $SE(RI) = 10,8$; $Q^2 = 0,980$; $n = 152$)

(Heteroskedastický model)

$$RI_{\text{calc PDMS}} = 188,4(\pm 2,9) L_{\text{PB}} + 117,6(\pm 31,2) E_{\text{calc}} + 93,2(\pm 9,0) \quad (3.4.3.8)$$

(model PB $R^2 = 0,9700$; $F = 2412$; $SE(RI) = 13,5$; $Q^2 = 0,969$; $n = 152$)

(Heteroskedastický model)

V rovnicích (3.4.3.5) až (3.4.3.8) je význam jednotlivých členů a statistiky stejný jako v předchozích vztazích. Celkově jsou vlastnosti dvou-deskriptorového modelu 152 látek podobné výsledkům alkenů C5-C7. Podle hodnot statistiky, model HS poskytuje o trochu lepší popis retence oproti PB. Ovšem testy platnosti regresního modelu ukázaly na nevýznamný člen eE v rovnicích (3.4.3.5) a (3.4.3.7) pro model HS, chyba odhadu regresního koeficientu e (uvedená v závorkách) je poměrně vysoká vzhledem k samotné hodnotě koeficientu e , v případě retence na skvalanu i PDMS. Rovněž F -test významnosti přidáním proměnné (rovnice (1.2.1.15)) neukázal zvýšení popsitelnosti modelu HS rozšířením o další proměnnou (deskriptor E).

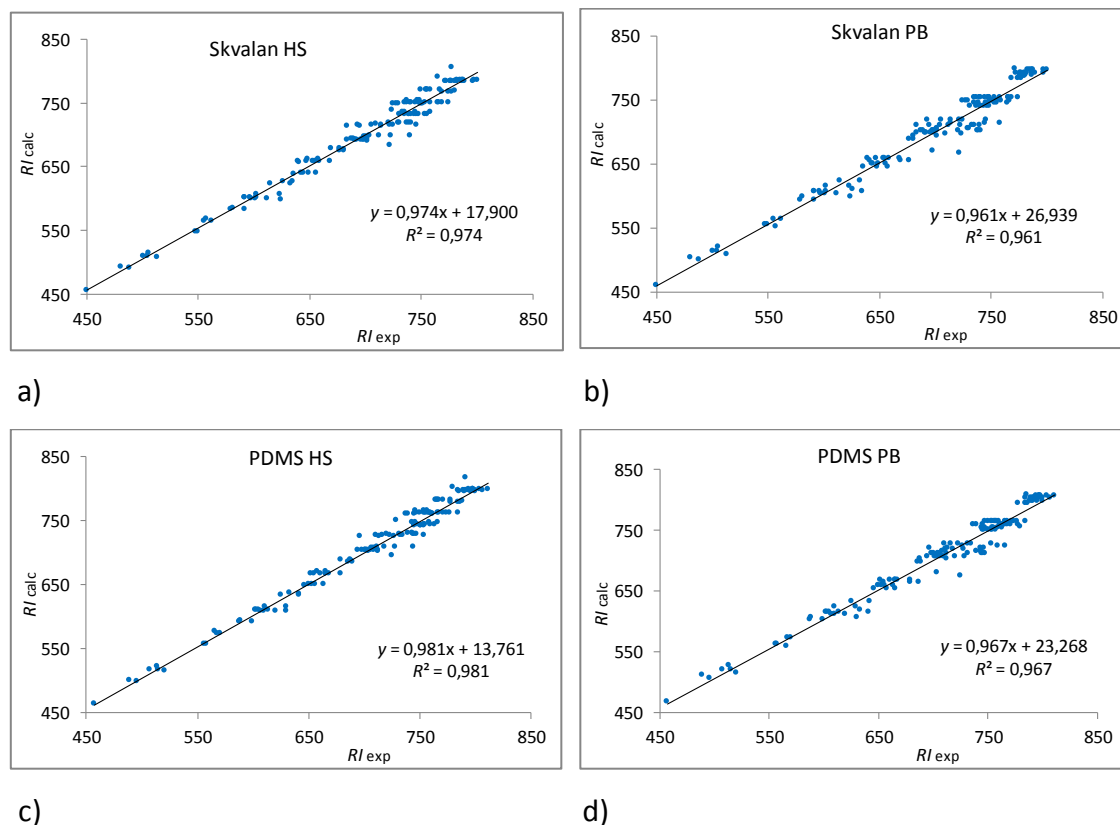
Analýza reziduí ve všech dvou-deskriptorových modelech (rovnice (3.4.3.5) až (3.4.3.8)) prokázala heteroskedasticitu. Zde jsou výsledky 5 testů více jednoznačné, než u předchozích rovnic. Jako závěr testů platnosti regresního modelu lze uvést, že žádný z modelů HS a PB není platný při použití dvou deskriptorů L , E . Hodnoty provedených testů na homoskedasticitu reziduí (rovnice (3.4.3.5) až (3.4.3.8)) jsou znázorněny v tabulce 13.

Tabulka 13

Seznam provedených testů homoskedasticity a jejich výsledné hodnoty pro dvou-deskriptorové modely HS a PB. Znázornění kritických hodnot pro zvolené testy na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ (hodnota testu vyšší než kritická hodnota prokazuje heteroskedasticitu, tyto hodnoty jsou označeny tučným písmem).

Test homoskedasticity	Výsledné hodnoty testů				Kritická hodnota
	HS _{SQ}	HS _{PDMS}	PB _{SQ}	PB _{PDMS}	
Znaménkový test náhodnosti reziduí	4,39	4,56	4,07	4,72	U = 1,96
Glejserův test závislosti reziduí	3,74	4,07	6,41	9,77	$F_{0,95(1;150)} = 3,90$
Whiteův test závislosti reziduí	1,25	1,19	2,22	2,89	$F_{0,95(5;146)} = 2,28$
F -test podobnosti polovin reziduí	1,69	2,01	1,90	2,02	$F_{0,975(75;75)} = 1,58$
Goldfeld-Quandtův test	1,78	1,94	2,23	2,60	$F_{0,975(67;67)} = 1,62$

Hodnoty vypočtené retence jedno-deskriptorovými modely HS a PB (rovnice (3.4.3.1) až (3.4.3.4)) byly porovnány s experimentální retencí a graficky znázorněny (obr. 13a, b, c, d).



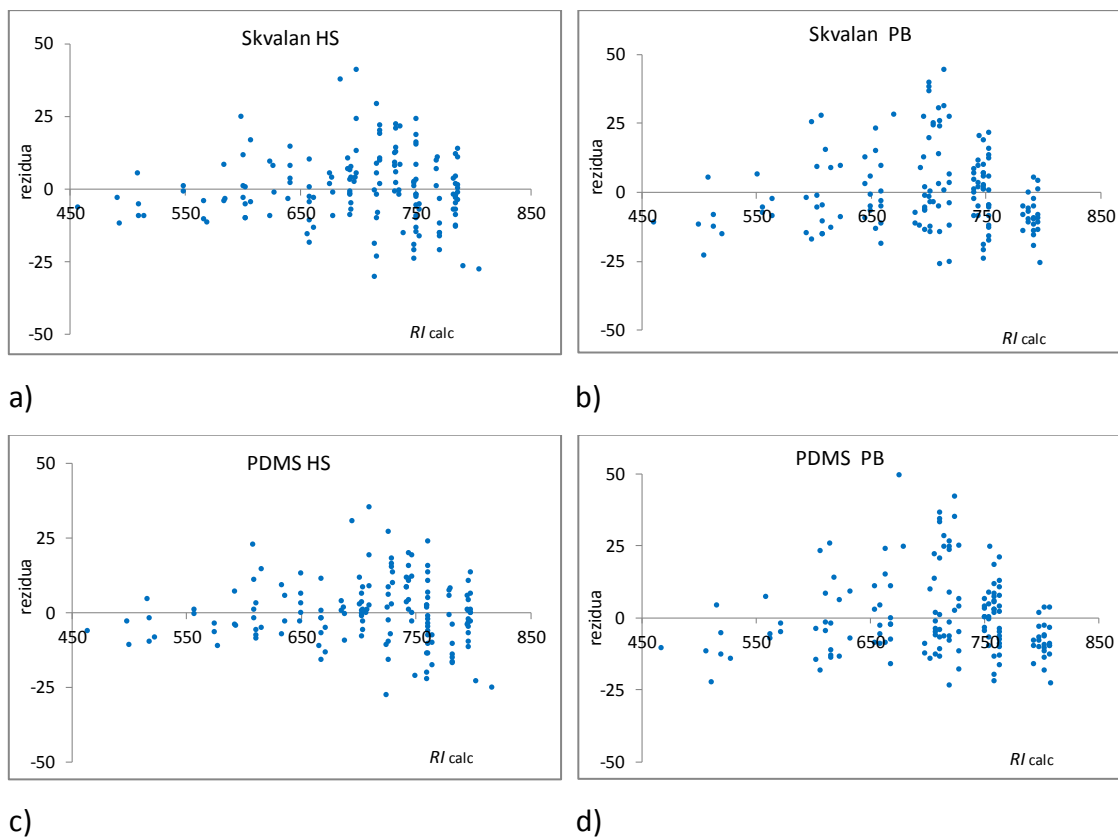
Obr. 13a-d)

Porovnání vypočtené retence (RI_{calc}) s naměřenou retencí (RI_{exp}) pomocí jedno-deskriptorového modelu:

- a) retence na skvalanu počítaná modelem HS,
- b) retence na skvalanu počítaná modelem PB,
- c) retence na PDMS počítaná modelem HS,
- d) retence na PDMS počítaná modelem PB

V grafech na obr.13a-d) je patrné uspořádání bodů do vodorovných pásů podle podobné hodnoty RI_{calc} . V případě modelu HS je toto členění bodů jemnější (více linií) a méně výrazné. Model PB zde vykazuje shluky hodnot podél regresní přímky, oddělené mezerami bez bodů. Důvodem je zřejmě větší počet alkenů se stejnou nebo podobnou hodnotou L_{PB} , způsobenou menším počtem strukturních příspěvků metody PB pro

výpočet deskriptoru L . Rozložení reziduí pro modely HS a PB v rovnicích (3.4.3.1) až (3.4.3.4) je znázorněno na obr. 14a-d).



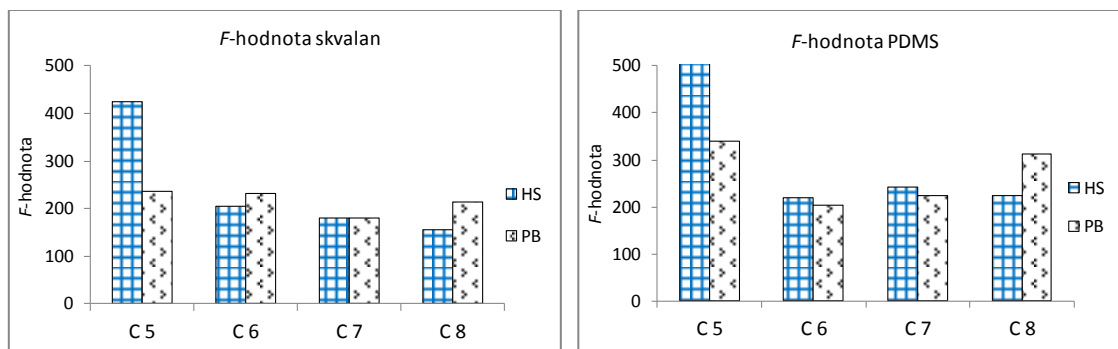
Obr. 14a-d)

Hodnoty reziduí vypočtené retence C5-C8 alkenů ($RI_{exp} - RI_{calc}$) podle rovnic (3.4.3.1) až (3.4.3.4) pro:

- a) odhad retence na skvalanu modelem HS,
- b) odhad retence na skvalanu modelem PB,
- c) odhad retence na PDMS modelem HS,
- d) retence na PDMS modelem PB

Rezidua zobrazená na obr. 14a-d) jsou uspořádána do podoby svislých pásů. Celkový tvar množiny bodů v uvedených grafech není příliš podobný náhodnému rozmístění hodnot v podobě oblaku, které lze očekávat u homoskedastického modelu. Rozložení reziduí modelu PB vykazuje výraznější pravidelné pásy bodů podle podobné hodnoty RI_{calc} .

Dále byla provedena MLR analýza skupin alkenů podle počtu uhlíků v molekule. Byly studovány skupiny alkenů C5 (6 látek), C6 (17 látek), C7 (36 látek) a C8 (93 látek). Jako stručný přehled výsledků je v grafu na obr. 15 znázorněna F -hodnota regrese dvou-deskriptorových modelů (L , E) jednotlivých skupin alkenů pro retenci na skvalanu a PDMS.



a)

b)

Obr. 15a,b)

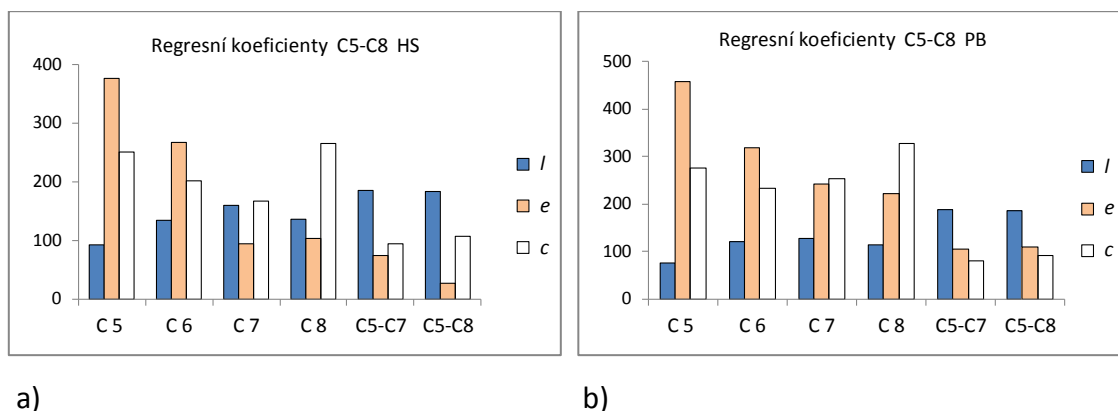
F -hodnota regrese jednotlivých skupin alkenů podle počtu uhlíků v molekule. Model HS s deskriptory ($L_{HS \text{ no cis}}$; E_{calc}) a model PB s deskriptory (L_{PB} ; E_{calc}),

a) retence na skvalanu,

b) retence na PDMS (F -hodnota pro C5 (HS), $F = 802$)

Schopnost popisu retence skupin alkenů podle počtu uhlíků v molekule ukazuje poměrně vyrovnané hodnoty pro oba modely, s výjimkou C5 alkenů, kde vyšší F -hodnota může být způsobena odlehlým výsledkem, z důvodu malého počtu bodů (6 látek) v MLR. Ve všech případech regresní modely splňovaly předpoklady platnosti. Obecně je retence u všech skupin látek lépe popsána na PDMS, v porovnání s retencí na skvalanu.

Výsledky MLR analýzy skupin alkenů, podle počtu uhlíků v molekule, byly studovány z hlediska velikosti regresních koeficientů (l , e) a jejich vzájemného poměru.



Obr. 16a,b)

Hodnoty regresních koeficientů l , e a konstanty c pro jednotlivé skupiny alkenů:

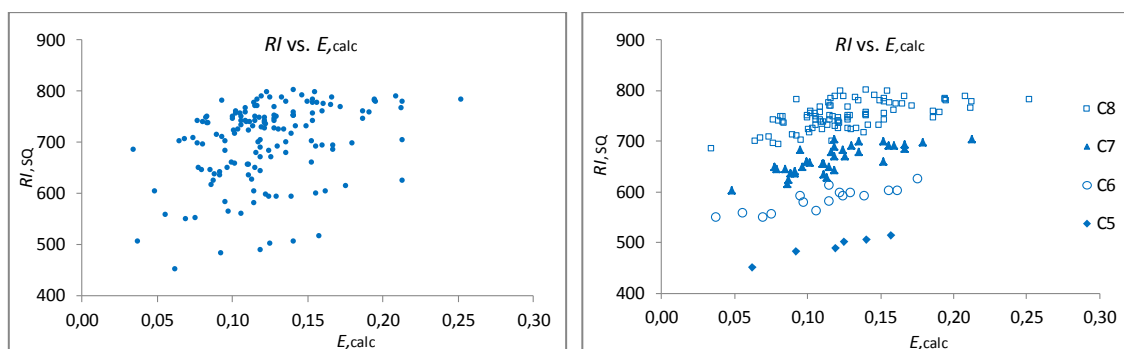
a) model HS, b) model PB

Podle obr. 16 je patrný trend klesající významnosti koeficientu e s rostoucím počtem uhlíků v molekule alkenů, nejvyšší hodnoty e dosahují C5 alkeny. Na druhou stranu, koeficient l má opačný trend u skupin C5, C6 a C7. Je zajímavé, že v modelu PB je koeficient e celkově významnější u všech skupin alkenů podle počtu uhlíků v molekule. Vzhledem k rozdílné velikosti použitých deskriptorů L (1,9 až 3,7) a E (0,04 až 0,25), je rozhodujícím příspěvkem k retenci člen lL , pro všechny uvedené modely C5-C8 alkenů.

V případě ideálního LSER modelu by regresní koeficienty měly být ovlivněny pouze vlastnostmi stacionární fáze a teploty (pro plynovou chromatografii). Tedy měly by být nezávislé na charakteru měřených analytů. V případě alkenů C5-C8 se hodnoty regresních koeficientů a jejich poměr mění v závislosti na výběru látek, použitých v MLR pro formulaci regresního modelu. Důvodem mohou být proměnné (deskriptory) vykazující vzájemné korelace, jak bylo zmíněno v kapitole 1.1.7.4. Je nutno také přihlížet ke skutečnosti, že se nejedná o přesné experimentální hodnoty deskriptoru L , ale pouze o jejich vypočtený odhad zatížený chybou.

Deskriptor E_{calc} poskytl vyšší korelaci s retencí oktenů ($R=0,613$), než v případě skupin C5-C7 ($R = 0,332$), nebo C5-C8 alkenů ($R = 0,349$). Rovněž u ostatních skupin rozdělených podle počtu uhlíků (C5, C6, C7) byla korelace deskriptoru E_{calc} a retence vyšší, než v případě smíšených skupin alkenů. Na druhou stranu, skupiny alkenů podle

počtu uhlíků (C5, C6, C7, C8) prokazovaly současně větší korelaci (závislost) mezi deskriptory E_{calc} a L .



a)

b)

Obr. 17a,b)

Závislost retenčního indexu na skvalanu (RI_{SQ}) a deskriptoru E_{calc} pro všech 152 alkenů C5-C8:

a) celkové znázornění závislosti,

b) rozdělení bodů v grafu podle počtu uhlíků (C5, C6, C7, C8) v molekule alkenů

Na obr. 17 je zobrazena závislost retence všech 152 alkenů (skvalan) na deskriptoru E_{calc} . Z rozložení bodů v grafu 17b) jsou zřejmé oddělené skupiny hodnot pro C5, C6, C7 a C8 alkeny, tvořící zhruba rovnoběžné linie. Tyto linie bodů se stejným počtem uhlíků v molekule zjevně vykazují vyšší závislost retence a E_{calc} , než celý soubor 152 alkenů.

Závěrem této kapitoly lze shrnout:

jedno-deskriptorový model HS ukázal lepší schopnost popisu retence, podobně jako v předchozích kapitolách. U velké skupiny C5-C8 alkenů se výrazněji projevovала heteroskedasticita reziduí, zejména u dvou-deskriptorových modelů (L , E), které nesplňovaly předpoklady regresního modelu. V případě jedno-deskriptorového modelu nelze jednoznačně rozhodnout o heteroskedasticitě, neboť použité testy poskytují odlišné výsledky. Modely HS a PB s jedním deskriptorem L lze považovat za platné, ale celkově méně vhodné k popisu retence.

Velikost regresních koeficientů l , e je různá u modelů sestavených podle počtu uhlíků v molekule alkenů. S rostoucím počtem uhlíků klesá významnost koeficientu e a narůstá velikost koeficientu l . Model PB vykazuje vyšší hodnoty koeficientu e v porovnání s modelem HS. Závislost retence alkenů a deskriptoru E_{calc} je podstatně vyšší u skupin rozdělených podle počtu uhlíků v molekule. Zároveň tyto skupiny vykazují větší korelaci mezi proměnnými deskriptory (L , E).

3.4.4 Shrnutí výsledků kapitoly 3

Abrahamův solvatační model (LSER) byl použit k popisu retence všech izomerů C5-C8 alkenů na stacionárních fázích skvalanu a PDMS. Poněvadž experimentální hodnoty LSER deskriptorů nejsou dostupné pro studovanou skupinu 152 alkenů, bylo nutné jejich hodnoty získat pomocí odhadových metod. Pro výpočet deskriptoru L byly vybrány metody Havelec-Ševčík (HS) a Platts-Butina (PB), založené na příspěvcích jednotlivých funkčních skupin v molekule. Deskriptor E byl přímo určen podle indexu lomu a McGowanova charakteristického objemu V_x alkenů. Na základě experimentálních hodnot retenčních indexů alkenů a deskriptorů L , E byly zformulovány metodou MLR regresní modely pro odhad retence alkenů.

Modely HS a PB, odvozené od způsobu výpočtu deskriptoru L , byly nejdříve použity k popisu retence C5-C7 alkenů. Na základě analýzy reziduí jednotlivých látek, byla zjištěna vyšší chyba odhadu retence pro cis izomery alkenů, počítané modelem HS. Po vyloučení příspěvku cis interakce z deskriptoru L_{HS} byla vypočtena nová hodnota $L_{\text{HS no cis}}$ pro všechny alkeny. Takto upravený model HS poskytoval podstatně lepší odhad retence, než původní model. Retence všech 59 alkenů byla počítána rovnicemi s jedním deskriptorem (L) a poté oběma deskriptory (L , E). V obou případech se model HS ukázal vhodnější k odhadu retence. Celkově dvou-deskriptorový model lépe popisoval retenci C5-C7 alkenů.

Další studovanou skupinou látek byly všechny izomery oktenů (93 látek). K oběma modelům HS a PB byl zařazen další model, založený na odhadu hodnot LSER deskriptorů pomocí programu ADME Absolv 2.0. Tento model (ADME calc) se ukázal

jako nevyhovující z důvodu silné závislosti (multikolinearity) mezi vypočtenými deskriptory a přítomnosti heteroskedasticity reziduí. Ani při použití rovnice s jedinou proměnnou $L_{adme\ calc}$ nebyly výsledky uspokojivé, neboť odhad retence modelem ADME calc byl podstatně horší, než pomocí modelů HS a PB. Nejlepších výsledků v popisu retence oktenů bylo dosaženo modelem PB, s použitím obou deskriptorů L_{PB} a E_{calc} . Porovnáním s ostatními proměnnými, deskriptor $L_{HS\ no\ cis}$ nejvíce koreloval s retencí. Model HS se ukázal jako ideální pro popis retence pomocí jediného deskriptoru L .

Na závěr byla popisována retence celé skupiny C5-C8 alkenů. V případě všech 152 látek se výrazněji projevovала heteroskedasticita reziduí, zvláště u dvou-deskriptorových modelů (L, E), které nesplňovaly předpoklady platnosti regresního modelu. V případě jedno-deskriptorových modelů HS a PB nelze jednoznačně rozhodnout o heteroskedasticitě, neboť použité testy poskytují odlišné výsledky. Oba modely s jedním deskriptorem L lze považovat za platné, ale celkově méně vhodné k popisu retence všech C5-C8 alkenů.

4 ZÁVĚR

Solvatační model byl použit ke studiu retenčního chování látek v kapalinové a plynové chromatografii. V první kapitole, zabývající se kapalinovou chromatografií, byl studován popis retence 21 látek solvatačním modelem na reverzní stacionární fázi v širokém rozmezí složení mobilní fáze methanol-voda a acetonitril-voda. Ukázalo se, že aromatické sloučeniny jsou lépe popsány solvatačním modelem, než alifatické sloučeniny.

Retenční chování jednotlivých analytů bylo studováno pomocí modelu LSST. V prostředí mobilní fáze methanol-voda byla retence látek lépe popsána modelem LSST, než v případě acetonitril-voda. Dále byla použita kombinace modelů LSER a LSST, za účelem zlepšit popis retence látek v krajních oblastech složení mobilní fáze, kde analyty vykazují nepravidelnou retenci. Takto upravený model neposkytnul lepší popis retence oproti původnímu LSER modelu.

Byl sledován vliv jednotlivých analytů, použitých pro formulaci LSER modelu, na celkovou schopnost popisu retence modelem. Odlišných výsledků v odhadu retence bylo dosaženo použitím regresního souboru látek obsahujícího pouze sloučeniny aromatické, nebo naopak jen alifatické. Rozdílné výsledky také poskytoval solvatační model formulovaný pouze z kyslíkatých derivátů, nebo naopak dusíkatých derivátů organických látek.

Druhá kapitola práce, tematicky zaměřená na plynovou chromatografii, se zabývala popisem retence skupiny 152 izomerů C5-C8 alkenů LSER modelem, na stacionárních fázích skvalanu a PDMS. Solvatační deskriptory alkenů byly získány pomocí odhadových metod. Deskriptor L byl počítán metodami Havelec-Ševčík (HS) a Platts-Butina (PB), deskriptor E byl přímo určen podle hodnot indexu lomu a McGowanova charakteristického objemu V_x alkenů.

Na základě použitých metod k odhadu deskriptorů byly sestaveny dva modely k popisu retence alkenů, model HS a model PB. Byla zjištěna vyšší chyba odhadu retence pro cis izomery alkenů, počítané modelem HS. Po úpravě modelu HS odstraněním příspěvku pro cis interakce, bylo dosaženo podstatného zlepšení v popisu retence.

Oba modely byly použity k odhadu retence 59 alkenů C5-C7. Model HS s oběma deskriptory $L_{HS \text{ no cis}}$ a E_{calc} poskytnul přesnější popis retence, ve srovnání s modelem PB. Dále byla popisována retence skupiny 93 oktenů, nejlepších výsledků bylo dosaženo modelem PB pomocí deskriptorů L_{PB} a E_{calc} . Zároveň byl použit třetí model (ADME calc), založený na výpočtu LSER deskriptorů programem ADME Absolv 2.0. Tento model se ukázal jako nevyhovující, neboť nesplňoval podmínky platnosti regresního modelu a odhad retence alkenů byl málo přesný.

Na závěr byla studována retence celé skupiny C5-C8 alkenů, kde se výrazněji projevovала heteroskedasticita reziduí, zvláště u dvou-deskriptorových modelů. V případě jedno-deskriptorových modelů HS a PB nebyla heteroskedasticita jednoznačně prokázána. Nejlepší popis retence 152 alkenů s jediným deskriptorem L poskytnul model HS.

5 PŘÍLOHY P

Tabulka P1 Seznam studovaných látek a jejich LSER deskriptorů

	<i>V</i>	<i>E</i>	<i>S</i>	<i>A</i>	<i>B</i>
Anilin	0,816	0,995	0,96	0,26	0,41
Benzaldehyd	0,873	0,820	1,00	0,00	0,39
Benzamid	0,973	0,990	1,50	0,49	0,67
Benzen	0,716	0,610	0,52	0,00	0,14
Benzonitril	0,871	0,742	1,11	0,00	0,33
Benzylalkohol	0,916	0,803	0,87	0,33	0,56
Butyraldehyd	0,688	0,187	0,65	0,00	0,45
Cyklohexanon	0,861	0,403	0,86	0,00	0,56
Diethylether	0,731	0,041	0,25	0,00	0,45
Dichlormethan	0,494	0,387	0,57	0,10	0,05
<i>N,N</i> -Dimethylformamid	0,647	0,367	1,31	0,00	0,74
Ethylformiát	0,606	0,146	0,66	0,00	0,38
Fenol	0,775	0,805	0,89	0,60	0,31
Chloroform	0,617	0,425	0,49	0,15	0,02
<i>o</i> -Kresol	0,916	0,840	0,86	0,52	0,30
2-Nitroanilin	0,990	1,180	1,37	0,30	0,36
Nitrobenzen	0,891	0,871	1,11	0,00	0,28
Nitroethan	0,565	0,270	0,95	0,02	0,33
Nitromethan	0,424	0,313	0,95	0,06	0,31
2-Pentanon	0,829	0,143	0,68	0,00	0,51
Propylformiát	0,747	0,132	0,63	0,00	0,38
<i>Normalizovaný rozsah</i>	3,600	4,033	3,01	4,04	3,33

Tabulka P3

Koeficient determinace (R^2) korelační analýzy mezi vypočtenou a naměřenou hodnotou retence ($\log k$) a průměrná chyba predikce v mobilních fázích methanol-voda (MeOH) a acetonitril-voda (ACN)

% org. rozp.	R^2		chyba predikce	
	MeOH	ACN	MeOH	ACN
1	0,925	0,858	0,136	0,194
5	0,874	0,942	0,166	0,122
10	0,895	0,975	0,148	0,071
20	0,940	0,990	0,109	0,043
40	0,896	0,943	0,109	0,067
60	0,841	0,659	0,070	0,091
80	0,885	0,277	0,047	0,111
90	0,414	0,067	0,107	0,099
95	0,001	0,408	0,157	0,081
100	0,197	0,239	0,298	0,166
<i>průměr:</i>			0,135	0,105

Tab. P2a)

Hodnoty logaritmu retenčního faktoru látek naměřených (exp) a vypočtených (calc) pro jednotlivé složení mobilní fáze methanol-voda

% MeOH Látka	1		5		10		20		40		60		80		90		95		100	
	exp	calc	exp	calc	exp	calc	exp	calc	exp	calc	exp	calc	exp	calc	exp	calc	exp	calc	exp	calc
Anilin	1,099	1,098	0,889	0,992	0,781	0,875	0,566	0,668	0,237	0,239	-0,190	-0,155	-0,616	-0,593	-0,949	-0,929	-1,051	-1,002	-1,223	-1,116
Benzaldehyd	1,541	1,374	1,433	1,274	1,307	1,161	1,057	0,927	0,517	0,462	0,025	0,031	-0,460	-0,436	-0,719	-0,734	-0,856	-0,865	-0,989	-0,947
Benzamid	1,035	0,977	0,919	0,929	0,774	0,795	0,518	0,494	-0,013	0,109	-0,417	-0,331	-0,839	-0,810	-1,043	-1,014	-1,208	-0,930	-1,313	-1,788
Benzen	-	-	-	-	-	-	-	-	0,795	0,556	0,308	0,162	-0,231	-0,308	-0,558	-0,729	-0,687	-0,984	-0,851	-0,800
Benzonitril	1,612	1,368	1,512	1,302	1,393	1,209	1,121	0,994	0,596	0,552	0,045	0,079	-0,472	-0,402	-0,753	-0,713	-0,915	-0,874	-1,139	-0,955
Benzylalkohol	1,163	1,353	1,059	1,184	0,949	1,020	0,708	0,737	0,292	0,192	-0,145	-0,179	-0,600	-0,627	-0,939	-0,891	-1,097	-0,972	-1,255	-1,098
Butyraldehyd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,056	-0,279	-0,538	-0,637	-0,951	-0,899	-1,284	-0,962	-1,178	-1,035
Cyklohexanon	1,332	1,212	1,142	1,042	0,980	0,884	0,701	0,620	0,274	0,123	-0,186	-0,191	-0,559	-0,588	-0,839	-0,891	-0,880	-0,923	-0,939	-0,986
Diethylether	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,044	-0,158	-0,469	-0,454	-0,601	-0,876	-0,616	-1,294	-0,716	-0,272
Dichlormethan	0,568	0,418	0,554	0,262	0,525	0,233	0,489	0,300	0,317	0,083	-0,026	-0,076	-0,506	-0,492	-0,796	-0,885	-0,901	-0,959	-1,049	-1,348
<i>N,N</i> -Dimethylformamid	0,131	-0,123	0,139	-0,280	-0,040	-0,426	-0,295	-0,574	-0,530	-0,879	-0,700	-0,981	-0,899	-1,111	-0,963	-1,657	-0,973	-1,414	-0,928	-1,357
Ethylformiát	0,597	0,553	0,469	0,425	0,365	0,315	0,209	0,180	-0,040	-0,096	-0,335	-0,330	-0,682	-0,667	-0,956	-1,106	-1,022	-1,012	-1,105	-1,082
Fenol	1,053	0,642	0,981	0,490	0,888	0,454	0,700	0,398	0,295	0,147	-0,142	-0,126	-0,620	-0,634	-0,956	-1,035	-1,095	-0,979	-1,255	-1,980
Chloroform	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,205	0,224	-0,275	-0,308	-0,710	-0,676	-0,831	-0,780	-1,059	-0,958
<i>o</i> -Kresol	1,586	1,330	1,477	1,141	1,357	1,088	1,126	0,937	0,637	0,547	0,091	0,110	-0,452	-0,465	-0,805	-0,896	-0,944	-0,948	-1,165	-1,662
2-Nitroanilin	-	-	-	-	-	-	1,179	1,195	0,623	0,678	0,081	0,125	-0,429	-0,488	-0,742	-0,766	-0,890	-0,757	-0,971	-1,588
Nitrobenzen	-	-	-	-	-	-	1,233	1,153	0,742	0,702	0,217	0,187	-0,325	-0,329	-0,622	-0,621	-0,776	-0,825	-0,905	-0,918
Nitroethan	0,288	0,266	0,226	0,194	0,132	0,118	0,123	0,035	-0,157	-0,171	-0,403	-0,429	-0,769	-0,732	-1,042	-1,240	-1,140	-1,139	-1,281	-1,183
Nitromethan	-0,300	-0,248	-0,374	-0,293	-0,439	-0,374	-0,453	-0,350	-0,508	-0,478	-0,701	-0,533	-0,882	-0,817	-1,152	-1,038	-1,303	-0,998	-1,318	-1,464
2-Pentanon	1,246	1,314	1,076	1,139	0,920	0,996	0,653	0,728	0,247	0,306	-0,158	-0,143	-0,574	-0,501	-0,896	-0,829	-0,971	-1,144	-1,059	-0,491
Propylformiát	1,147	1,146	1,001	0,971	0,879	0,856	0,679	0,670	0,118	0,288	-0,093	-0,098	-0,525	-0,475	-0,836	-0,824	-0,973	-1,095	-1,081	-0,652

Tab. P2b)

Hodnoty logaritmu retenčního faktoru látek naměřených (exp) a vypočtených (calc) pro jednotlivé složení mobilní fáze acetonitril-voda

% ACN Látka	1		5		10		20		40		60		80		90		95		100	
	exp	calc	exp	calc	exp	calc	exp	calc	exp	calc	exp	calc	exp	calc	exp	calc	exp	calc	exp	calc
Anilin	0,875	1,013	0,763	0,866	0,693	0,756	0,548	0,568	0,195	0,171	-0,143	-0,156	-0,514	-0,557	-0,669	-0,639	-0,826	-0,733	-0,802	-0,797
Benzaldehyd	1,478	1,328	1,274	1,172	1,126	1,050	0,887	0,861	0,407	0,402	0,006	-0,002	-0,363	-0,434	-0,535	-0,548	-0,706	-0,663	-0,846	-0,799
Benzamid	0,969	0,855	0,710	0,659	0,477	0,501	0,167	0,220	-0,258	-0,090	-0,524	-0,380	-0,798	-0,528	-0,806	-0,690	-0,799	-0,802	-0,328	-0,420
Benzen	1,392	1,131	1,350	1,158	1,332	1,184	1,194	1,131	0,684	0,621	0,209	0,162	-0,236	-0,388	-0,448	-0,573	-0,627	-0,693	-0,769	-1,148
Benzonitril	1,548	1,360	1,384	1,253	1,252	1,152	1,036	0,982	0,509	0,494	0,049	0,010	-0,379	-0,421	-0,597	-0,554	-0,720	-0,714	-0,905	-0,845
Benzylalkohol	1,059	1,213	0,882	0,944	0,715	0,736	0,473	0,455	0,048	0,031	-0,279	-0,182	-0,588	-0,586	-0,717	-0,652	-0,739	-0,667	-0,793	-0,668
Butyraldehyd	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,110	0,056	-0,369	-0,112	-0,809	-0,521	-0,810	-0,549	-0,786	-0,571	-0,828	-0,788
Cyklohexanon	1,171	1,081	0,895	0,818	0,709	0,660	0,483	0,446	0,126	0,097	-0,164	-0,109	-0,464	-0,523	-0,435	-0,573	-0,541	-0,572	-0,718	-0,687
Diethylether	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,218	-0,251	-0,289	-0,684	-0,349	-0,650	-0,458	-0,599	-0,793	-0,906
Dichlormethan	0,475	0,035	0,546	0,287	0,655	0,557	0,651	0,702	0,366	0,417	-0,011	0,040	-0,377	-0,495	-0,395	-0,665	-0,654	-0,739	-0,905	-1,220
<i>N,N</i> -Dimethylformamid	0,000	-0,296	-0,371	-0,522	-0,494	-0,554	-0,658	-0,609	-0,704	-0,582	-0,720	-0,616	-0,729	-0,906	-0,556	-0,800	-0,398	-0,673	0,109	-0,674
Ethylformiát	0,410	0,413	0,254	0,296	0,223	0,307	0,165	0,245	-0,022	0,057	-0,236	-0,136	-0,590	-0,535	-0,647	-0,556	-0,603	-0,608	-0,987	-0,855
Fenol	0,983	0,305	0,905	0,492	0,801	0,614	0,618	0,585	0,189	0,246	-0,209	-0,138	-0,629	-0,520	-0,766	-0,775	-0,923	-0,891	-0,987	-0,930
Chloroform	-	-	-	-	-	-	-	-	0,631	0,660	0,179	0,178	-0,316	-0,288	-0,502	-0,446	-0,572	-0,718	-0,837	-1,058
<i>o</i> -Kresol	1,502	1,099	1,382	1,186	1,242	1,177	0,978	1,035	0,404	0,515	-0,058	0,034	-0,489	-0,393	-0,643	-0,697	-0,770	-0,873	-0,895	-0,950
2-Nitroanilin	1,579	1,574	1,465	1,501	1,284	1,395	1,048	1,141	0,468	0,600	0,000	0,096	-0,464	-0,249	-0,619	-0,565	-0,884	-0,808	-0,974	-0,751
Nitrobenzen	1,599	1,520	1,492	1,433	1,408	1,330	1,202	1,153	0,635	0,612	0,132	0,071	-0,318	-0,373	-0,563	-0,532	-0,743	-0,727	-0,905	-0,869
Nitroethan	0,149	0,083	0,129	0,074	0,224	0,182	0,247	0,192	0,110	0,013	-0,171	-0,236	-0,597	-0,585	-0,681	-0,637	-0,758	-0,662	-1,158	-0,842
Nitromethan	-0,698	-0,379	-0,547	-0,358	-0,266	-0,207	-0,123	-0,128	-0,122	-0,143	-0,324	-0,370	-0,728	-0,706	-0,758	-0,677	-0,810	-0,757	-1,265	-0,973
2-Pentanon	1,106	1,215	0,859	0,922	0,711	0,716	0,508	0,493	0,169	0,072	-0,134	-0,219	-0,490	-0,576	-0,545	-0,594	-0,487	-0,612	-0,793	-0,744
Propylformiát	0,979	0,982	0,803	0,823	0,722	0,732	0,576	0,599	0,234	0,195	-0,113	-0,128	-0,589	-0,542	-0,613	-0,601	-0,653	-0,638	-0,754	-0,882

Tab. P4a)

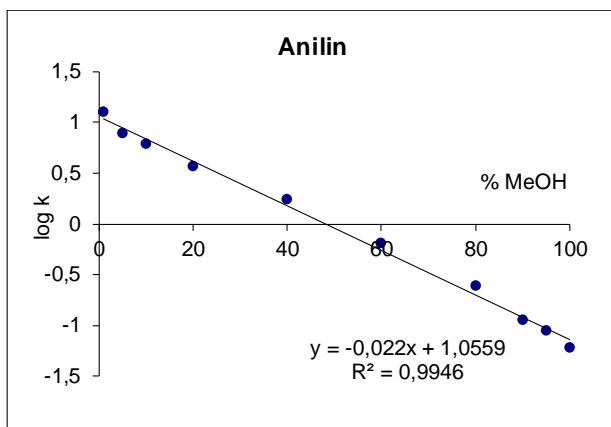
Hodnoty vypočteného logaritmu retenčního faktoru látek modelem LSST pro jednotlivé složení mobilní fáze methanol-voda označené jako $\log k_{\text{LSST}}$ a regresní rovnice použité k výpočtu $\log k_{\text{LSST}}$ (viz obr. P1), kde y odpovídá $\log k$ a x odpovídá obj. procentům methanolu v mobilní fázi

% MeOH	$\log k_{\text{LSST}}$										Regresní rovnice LSST
	1	5	10	20	40	60	80	90	95	100	
Anilin	1,034	0,946	0,836	0,616	0,176	-0,264	-0,703	-0,923	-1,033	-1,143	$y = -0,022x + 1,0559$
Benzaldehyd	1,534	1,432	1,305	1,051	0,542	0,034	-0,474	-0,729	-0,856	-0,983	$y = -0,0254x + 1,5592$
Benzamid	1,019	0,913	0,781	0,524	0,031	-0,435	-0,873	-1,082	-1,183	-1,284	$y = 3\text{E-}05x^2 - 0,0267x + 1,0454$
Benzen	-	-	-	-	0,795	0,308	-0,241	-0,540	-0,695	-0,854	$y = -8\text{E-}05x^2 - 0,0165x + 1,5803$
Benzonitril	1,608	1,509	1,385	1,131	0,608	0,065	-0,499	-0,789	-0,935	-1,084	$y = -3\text{E-}05x^2 - 0,0246x + 1,6329$
Benzylalkohol	1,129	1,053	0,955	0,753	0,319	-0,156	-0,670	-0,942	-1,082	-1,224	$y = -5\text{E-}05x^2 - 0,0187x + 1,1479$
Butyraldehyd	-	-	-	-	-	0,070	-0,609	-0,949	-1,119	-1,289	$y = -0,034x + 2,1091$
Cyklohexanon	1,269	1,156	1,018	0,749	0,250	-0,201	-0,603	-0,785	-0,872	-0,955	$y = 6\text{E-}05x^2 - 0,0287x + 1,298$
Diethylether	-	-	-	-	-	-0,047	-0,457	-0,597	-0,651	-0,695	$y = 0,0002x^2 - 0,0506x + 2,215$
Dichlormethan	0,560	0,555	0,542	0,491	0,294	-0,032	-0,487	-0,763	-0,913	-1,071	$y = -0,0002x^2 - 0,0002x + 0,5604$
<i>N,N</i> -Dimethylformamid	0,152	0,067	-0,034	-0,220	-0,530	-0,755	-0,897	-0,937	-0,949	-0,956	$y = 0,0001x^2 - 0,0218x + 0,1732$
Ethylformiát	0,561	0,495	0,413	0,247	-0,083	-0,414	-0,744	-0,909	-0,992	-1,075	$y = -0,0165x + 0,5779$
Fenol	1,040	0,976	0,892	0,714	0,314	-0,146	-0,664	-0,945	-1,092	-1,241	$y = -7\text{E-}05x^2 - 0,0156x + 1,0557$
Chloroform	-	-	-	-	-	0,210	-0,306	-0,655	-0,853	-1,065	$y = -0,0003x^2 + 0,0167x + 0,3018$
<i>o</i> -Kresol	1,564	1,478	1,368	1,139	0,644	0,101	-0,490	-0,803	-0,965	-1,129	$y = -6\text{E-}05x^2 - 0,0212x + 1,5857$
2-Nitroanilin	-	-	-	1,172	0,630	0,088	-0,455	-0,726	-0,862	-0,997	$y = -0,0271x + 1,7149$
Nitrobenzen	-	-	-	1,233	0,741	0,219	-0,332	-0,619	-0,765	-0,913	$y = -4\text{E-}05x^2 - 0,0224x + 1,6956$
Nitroethan	0,248	0,223	0,188	0,104	-0,122	-0,426	-0,807	-1,026	-1,143	-1,265	$y = -1\text{E-}04x^2 - 0,0055x + 0,2533$
Nitromethan	-0,375	-0,375	-0,379	-0,403	-0,512	-0,703	-0,976	-1,143	-1,234	-1,330	$y = -0,0001x^2 + 0,0007x - 0,3756$
2-Pentanon	1,125	1,036	0,925	0,704	0,260	-0,183	-0,626	-0,848	-0,959	-1,070	$y = -0,0226x + 1,1802$
Propylformiát	1,093	1,007	0,899	0,683	0,250	-0,182	-0,615	-0,831	-0,939	-1,047	$y = -0,0216x + 1,115$

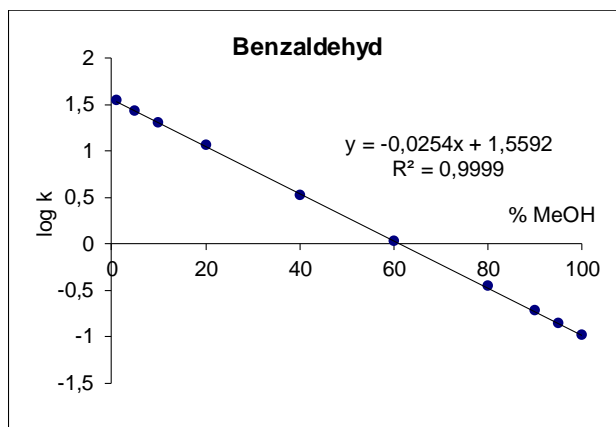
Tab. P4b)

Hodnoty vypočteného logaritmu retenčního faktoru látek modelem LSST pro jednotlivé složení mobilní fáze acetonitril-voda označené jako $\log k_{\text{LSST}}$ a regresní rovnice použité k výpočtu $\log k_{\text{LSST}}$ (viz obr. P2), kde y odpovídá $\log k$ a x odpovídá obj. procentům acetonitrilu v mobilní fázi

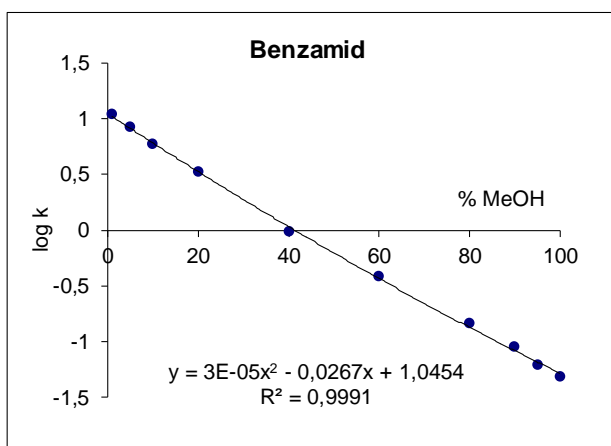
% ACN	$\log k_{\text{LSST}}$										Regresní rovnice LSST
	1	5	10	20	40	60	80	90	95	100	
Anilin	0,859	0,790	0,704	0,531	0,185	-0,161	-0,507	-0,680	-0,767	-0,853	$y = -0,0173x + 0,8767$
Benzaldehyd	1,401	1,296	1,166	0,915	0,443	0,011	-0,381	-0,562	-0,648	-0,733	$y = 5\text{E-}05x^2 - 0,0266x + 1,4273$
Benzamid	0,905	0,740	0,548	0,208	-0,292	-0,552	-0,572	-0,492	-0,430	-0,352	$y = 0,0003x^2 - 0,043x + 0,9477$
Benzen	1,444	1,376	1,289	1,105	0,701	0,249	-0,252	-0,520	-0,658	-0,800	$y = -6\text{E-}05x^2 - 0,0166x + 1,4605$
Benzonitril	1,487	1,392	1,273	1,035	0,559	0,083	-0,393	-0,631	-0,750	-0,869	$y = -0,0238x + 1,511$
Benzylalkohol	1,005	0,892	0,755	0,496	0,038	-0,340	-0,638	-0,757	-0,809	-0,856	$y = 0,0001x^2 - 0,0289x + 1,0338$
Butyraldehyd	-	-	-	-	-0,017	-0,319	-0,461	-0,472	-0,462	-0,443	$y = 0,0002x^2 - 0,0351x + 1,0675$
Cyklohexanon	1,035	0,926	0,794	0,545	0,107	-0,251	-0,529	-0,638	-0,685	-0,727	$y = 0,0001x^2 - 0,0279x + 1,0629$
Diethylether	-	-	-	-	-	0,211	-0,227	-0,446	-0,556	-0,665	$y = -0,0219x + 1,5249$
Dichlormethan	0,573	0,573	0,564	0,516	0,300	-0,076	-0,612	-0,940	-1,119	-1,308	$y = -0,0002x^2 + 0,0012x + 0,5719$
<i>N,N</i> -Dimethylformamid	-0,156	-0,267	-0,392	-0,597	-0,827	-0,817	-0,567	-0,352	-0,222	-0,077	$y = 0,0003x^2 - 0,0295x - 0,1266$
Ethylformiát	0,377	0,330	0,271	0,153	-0,083	-0,319	-0,555	-0,673	-0,732	-0,791	$y = -0,0118x + 0,3892$
Fenol	0,983	0,903	0,802	0,601	0,199	-0,203	-0,605	-0,806	-0,906	-1,007	$y = -0,0201x + 1,0032$
Chloroform	-	-	-	-	0,639	0,173	-0,293	-0,526	-0,643	-0,759	$y = -0,0233x + 1,571$
<i>o</i> -Kresol	1,505	1,386	1,240	0,956	0,424	-0,061	-0,497	-0,697	-0,792	-0,885	$y = 6\text{E-}05x^2 - 0,0302x + 1,5355$
2-Nitroanilin	1,534	1,432	1,306	1,053	0,547	0,041	-0,465	-0,718	-0,845	-0,971	$y = -0,0253x + 1,5588$
Nitrobenzen	1,623	1,523	1,398	1,148	0,648	0,148	-0,353	-0,603	-0,728	-0,853	$y = -0,025x + 1,6475$
Nitroethan	-0,578	-0,491	-0,396	-0,251	-0,141	-0,271	-0,641	-0,916	-1,076	-1,251	$y = -0,0003x^2 + 0,0235x - 0,6011$
Nitromethan	0,156	0,175	0,190	0,190	0,070	-0,210	-0,650	-0,930	-1,085	-1,250	$y = -0,0002x^2 + 0,006x + 0,1502$
2-Pentanon	0,992	0,896	0,780	0,559	0,165	-0,165	-0,431	-0,540	-0,589	-0,633	$y = 8\text{E-}05x^2 - 0,0245x + 1,0166$
Propylformiát	0,903	0,834	0,748	0,576	0,232	-0,112	-0,456	-0,628	-0,714	-0,800	$y = -0,0172x + 0,9197$



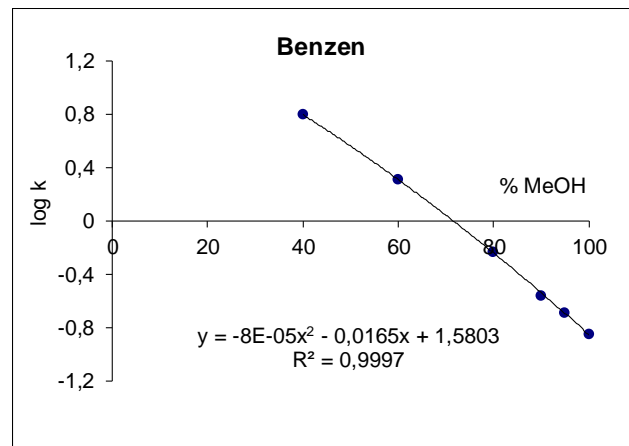
a)



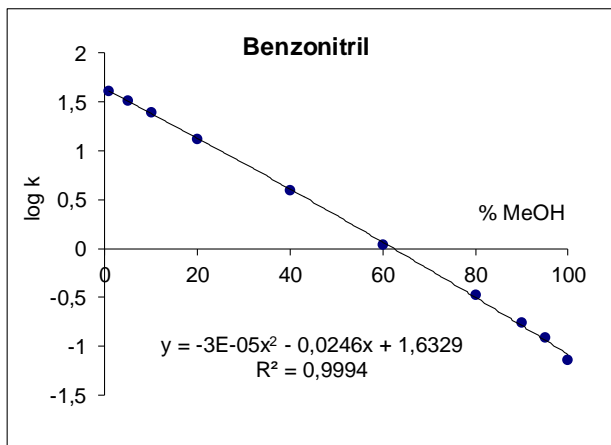
b)



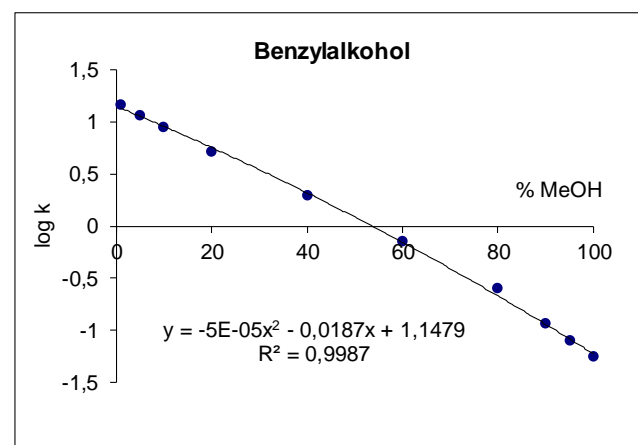
c)



d)



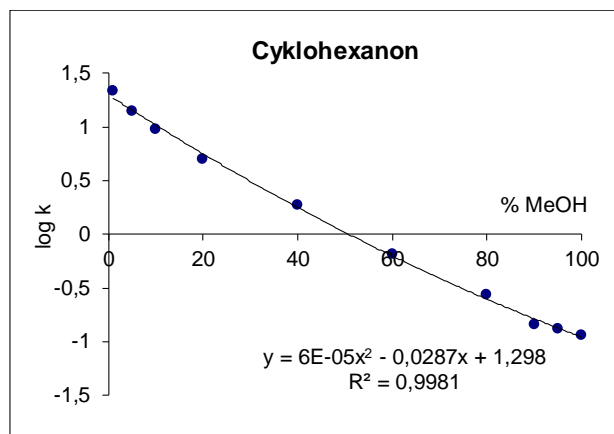
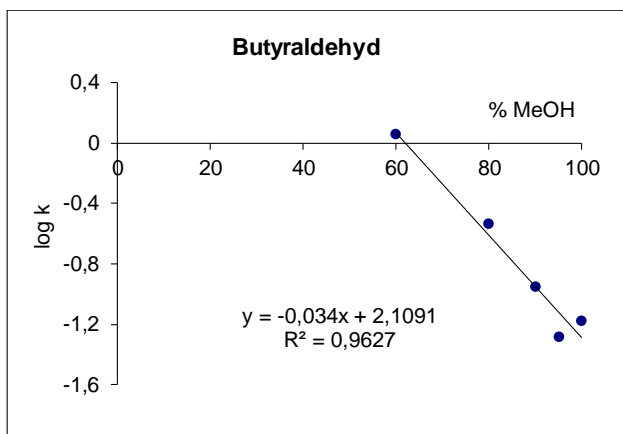
e)



f)

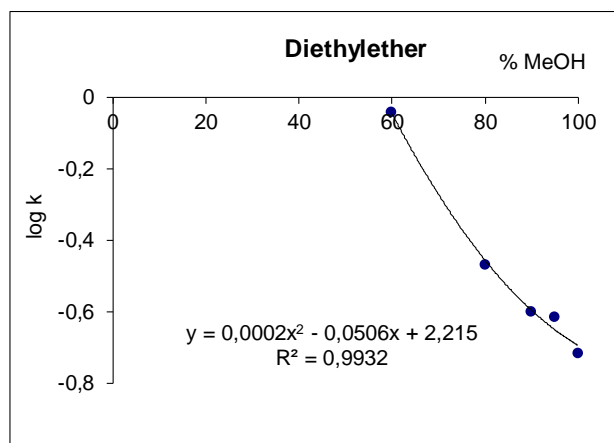
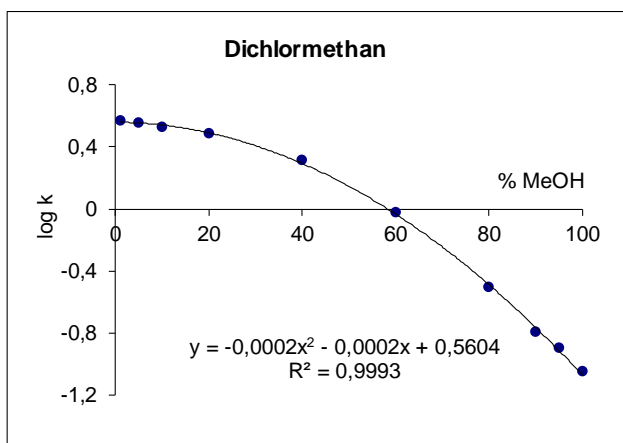
Obr. P1 a,b,c,d,e,f)

Závislost měřené retence ($\log k$) látek na objemových procentech methanolu (% MeOH) v mobilní fázi proložená regresní funkcí: a) Anilin, b) Benzaldehyd, c) Benzamid, d) Benzen, e) Benzonitril, f) Benzylalkohol. V rovnici R^2 je koeficient determinace, y odpovídá $\log k$, x popisuje % methanolu



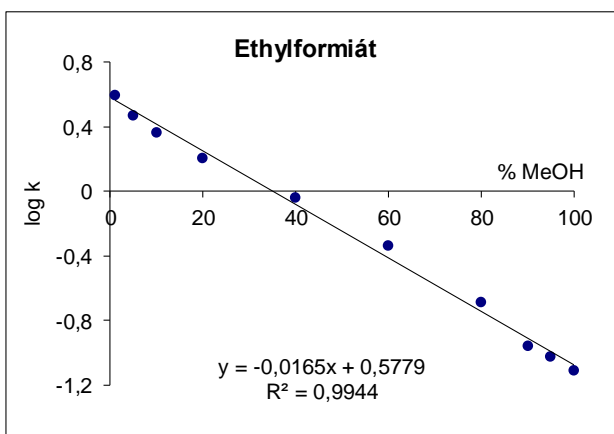
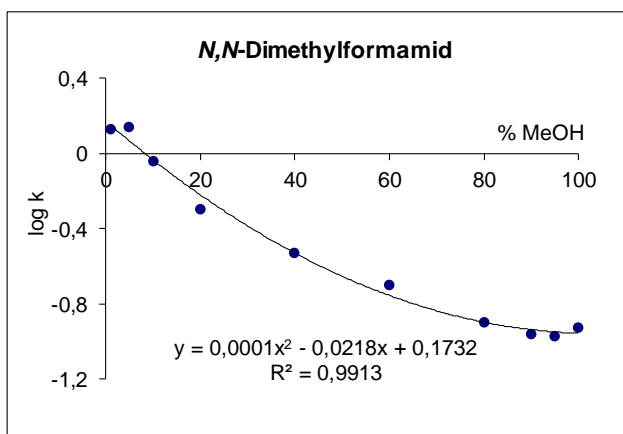
g)

h)



i)

j)

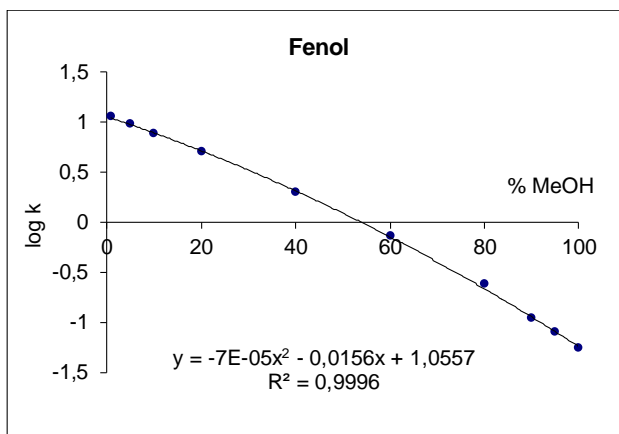


k)

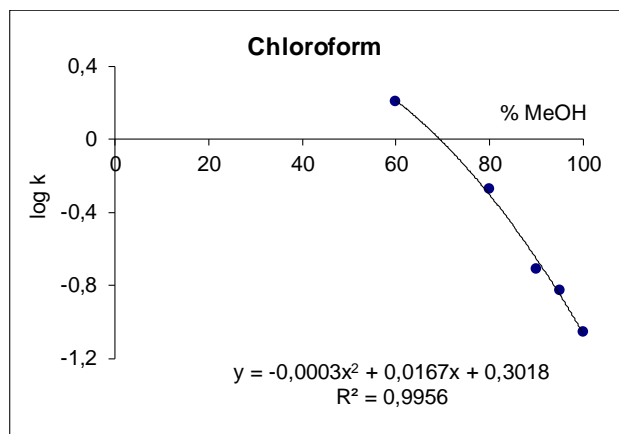
l)

Obr. P1 g,h,i,j,k,l)

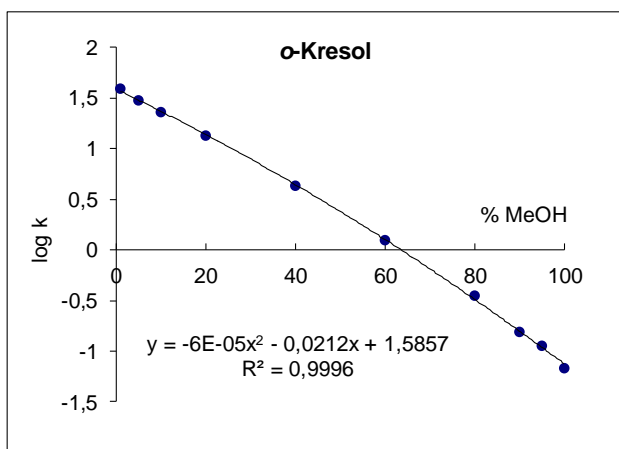
Závislost měřené retence ($\log k$) látek na objemových procentech methanolu (% MeOH) v mobilní fázi proložená regresní funkcí: g) Butyraldehyd, h) Cyklohexanon, i) Dichlormethan, j) Diethylether, k) *N,N*-Dimethylformamid, l) Ethylformiát. V rovnici R^2 je koeficient determinace, y odpovídá $\log k$, x popisuje % methanolu



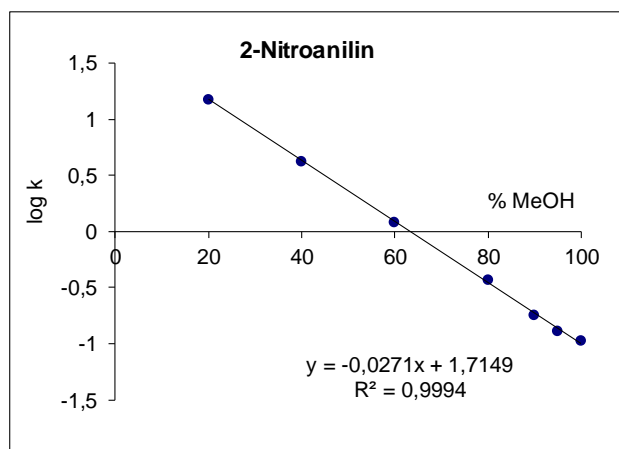
m)



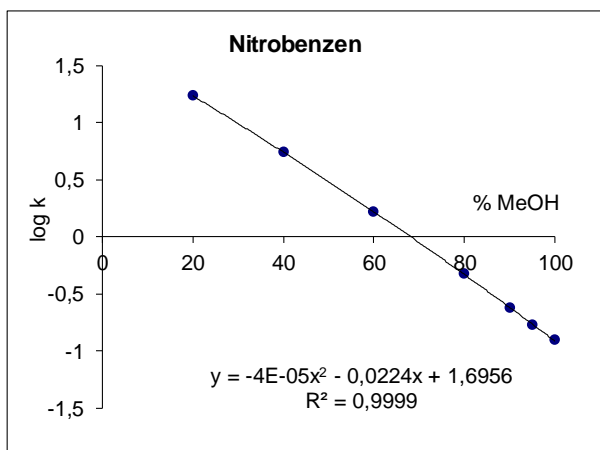
n)



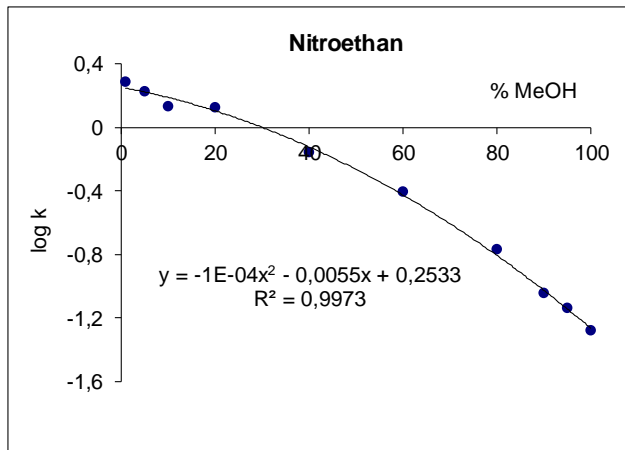
o)



p)



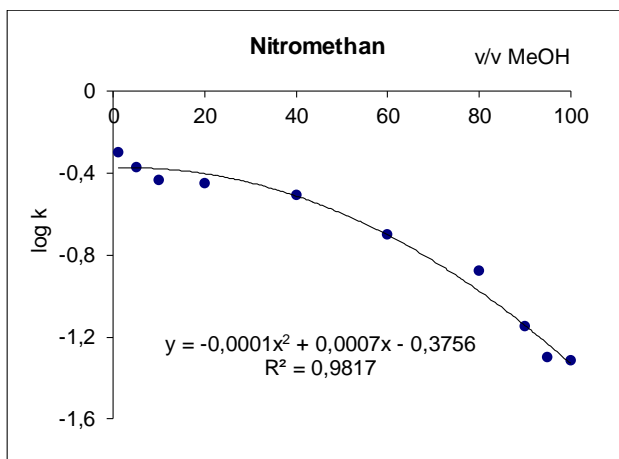
q)



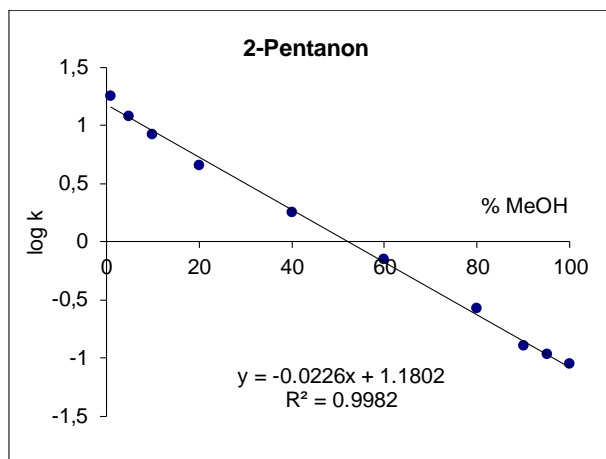
r)

Obr. P1 m,n,o,p,q,r)

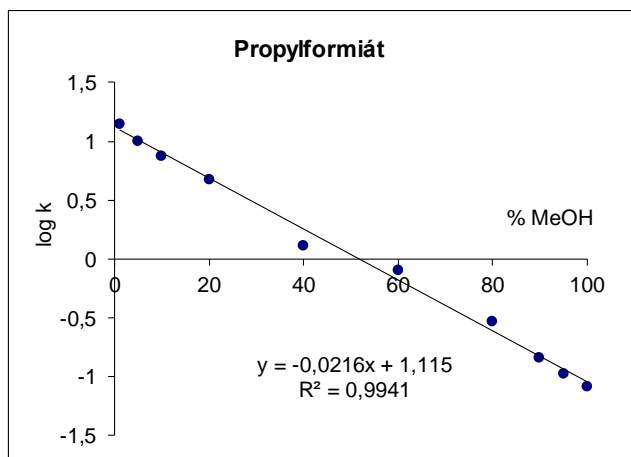
Závislost měřené retence ($\log k$) látek na objemových procentech methanolu (% MeOH) v mobilní fázi proložená regresní funkcí: m) Fenol, n) Chloroform, o) o-Kresol, p) 2-Nitroanilin, q) Nitrobenzen, r) Nitroethan. V rovnici R^2 je koeficient determinace, y odpovídá $\log k$, x popisuje % methanolu



s)



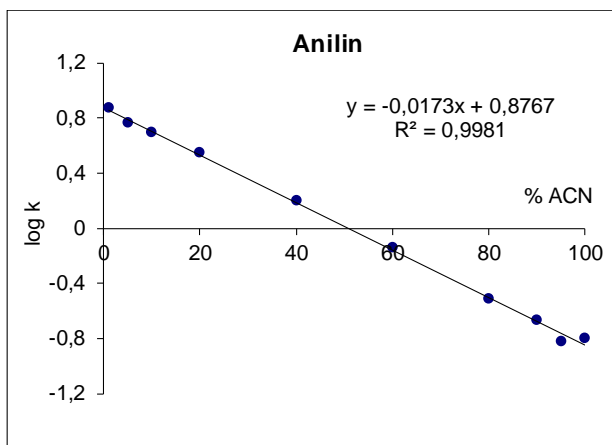
t)



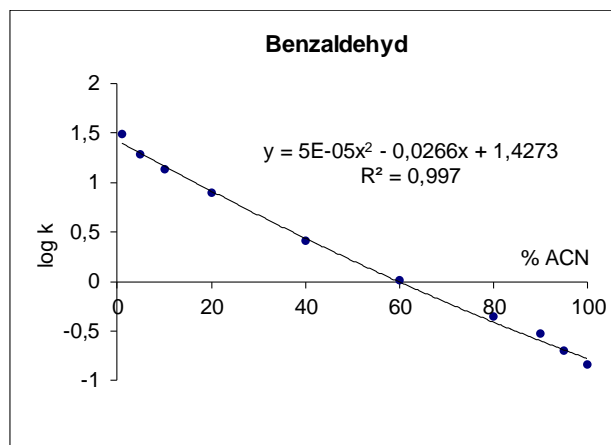
u)

Obr. P1 s,t,u)

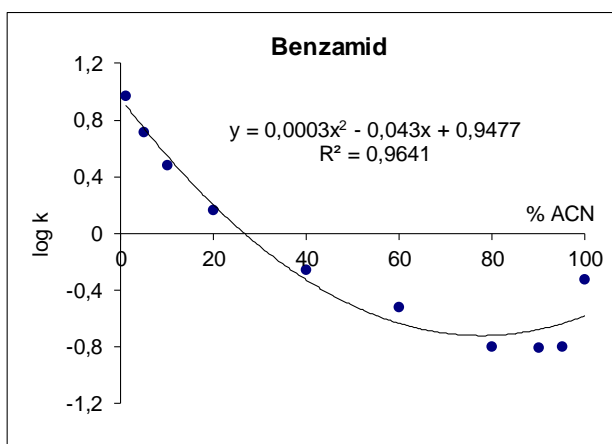
Závislost měřené retence ($\log k$) látek na objemových procentech methanolu (% MeOH) v mobilní fázi proložená regresní funkcí: s) Nitromethan, t) 2-Pentanon, u) Propylformiát. V rovnici R^2 je koeficient determinace, y odpovídá $\log k$, x popisuje % methanolu



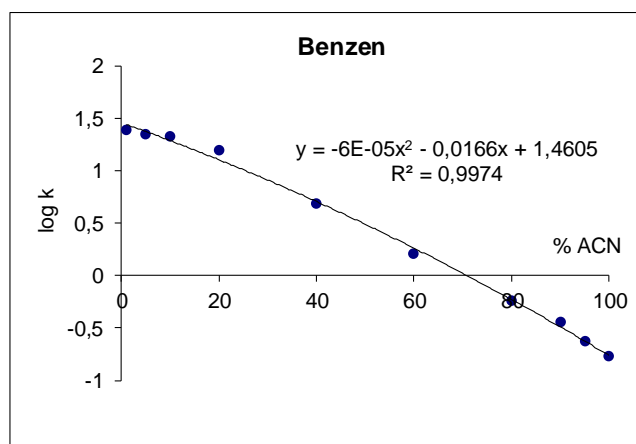
a)



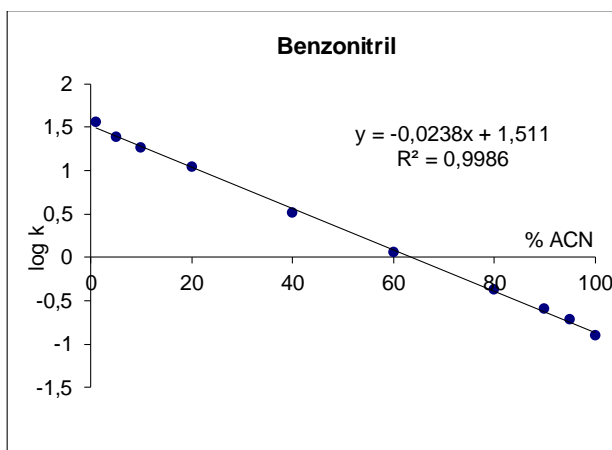
b)



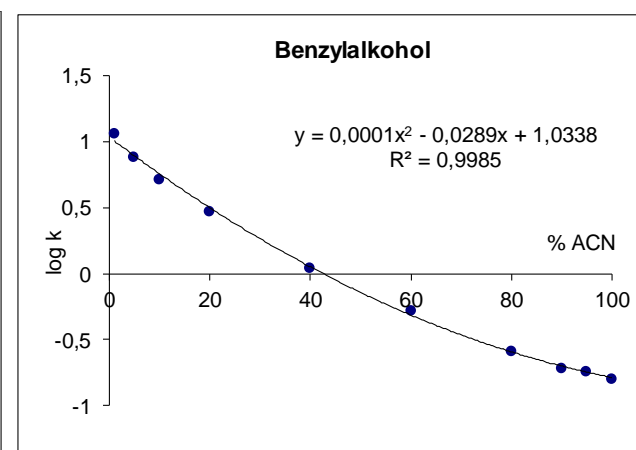
c)



d)



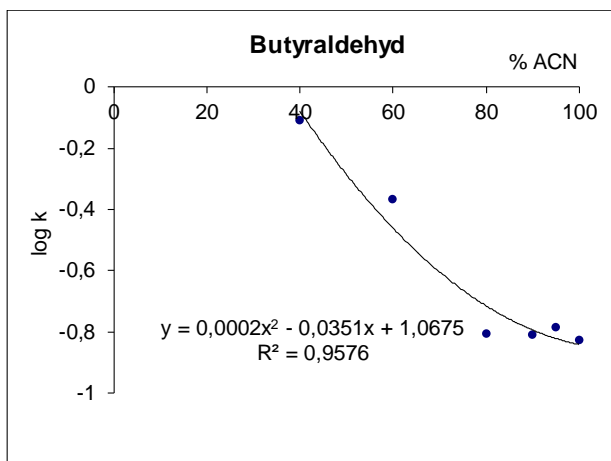
e)



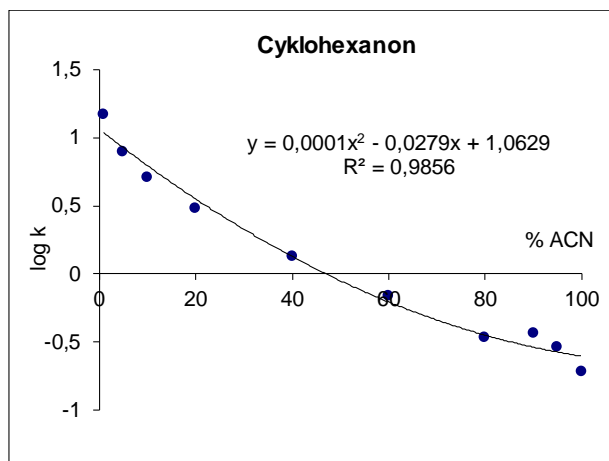
f)

Obr. P2 a,b,c,d,e,f)

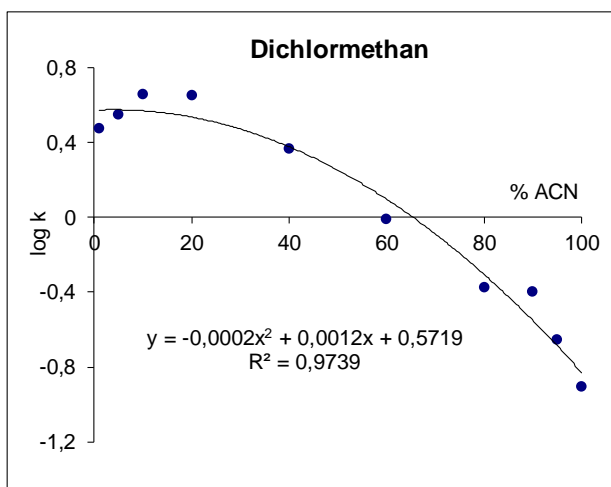
Závislost měřené retence ($\log k$) látek na objemových procentech acetonitrilu (% ACN) v mobilní fázi proložená regresní funkcí: a) Anilin, b) Benzaldehyd, c) Benzamid, d) Benzen, e) Benzonitril, f) Benzylalkohol. V rovnici R^2 je koeficient determinace, y odpovídá $\log k$, x popisuje % acetonitrilu



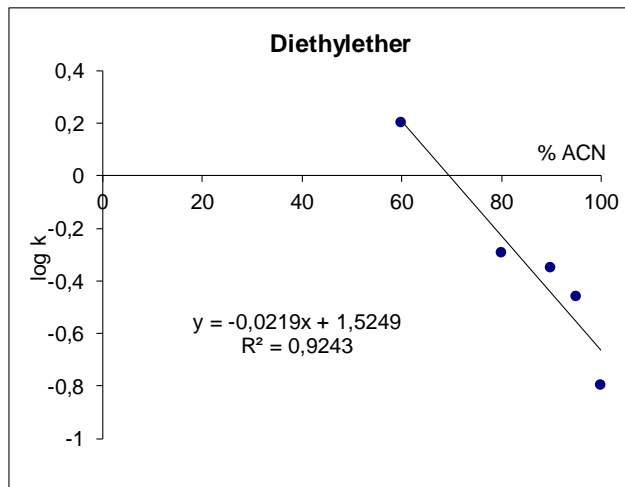
g)



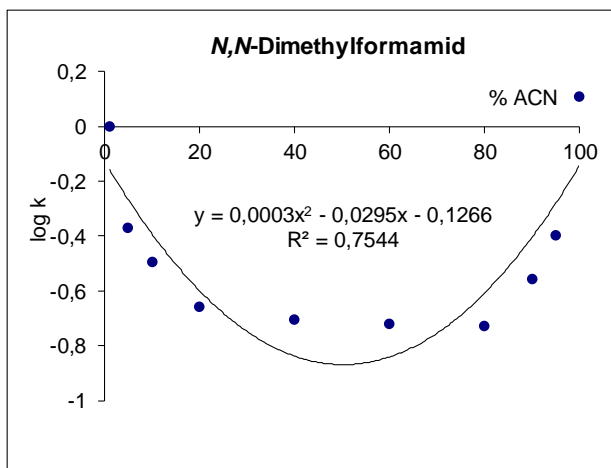
h)



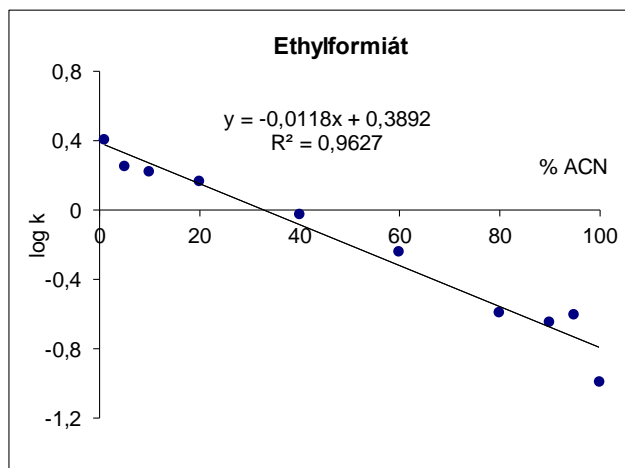
i)



j)



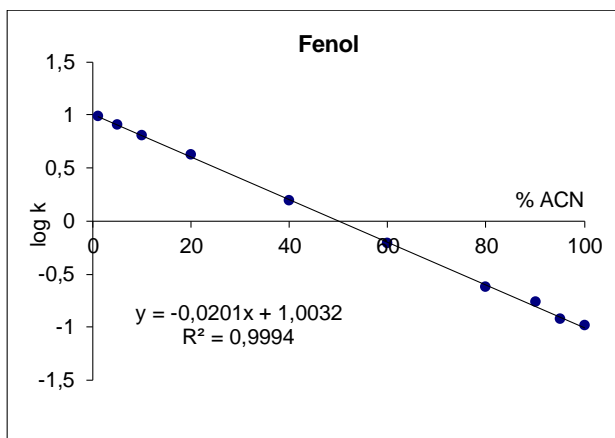
k)



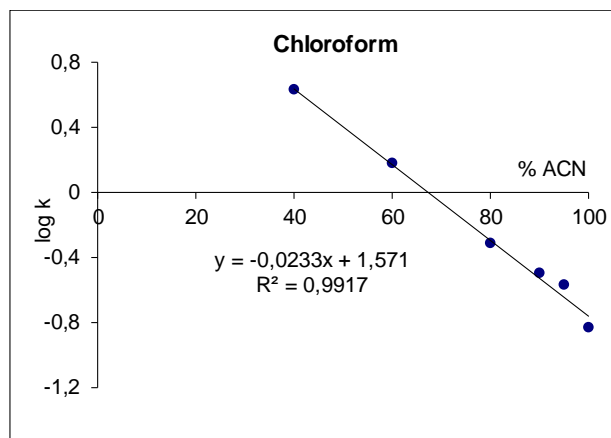
l)

Obr. P2 g,h,i,j,k,l)

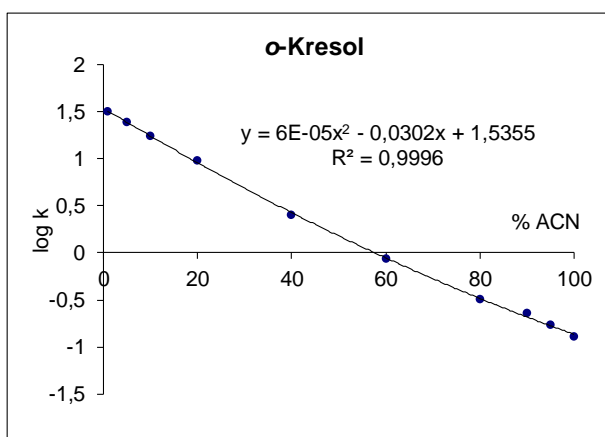
Závislost měřené retence ($\log k$) látek na objemových procentech acetonitrilu (% ACN) v mobilní fázi proložená regresní funkcí: g) Butyraldehyd, h) Cyklohexanon, i) Dichlormethan, j) Diethylether, k) *N,N*-Dimethylformamid, l) Ethylformiát. V rovnici R^2 je koeficient determinace, y odpovídá $\log k$, x popisuje % acetonitrilu



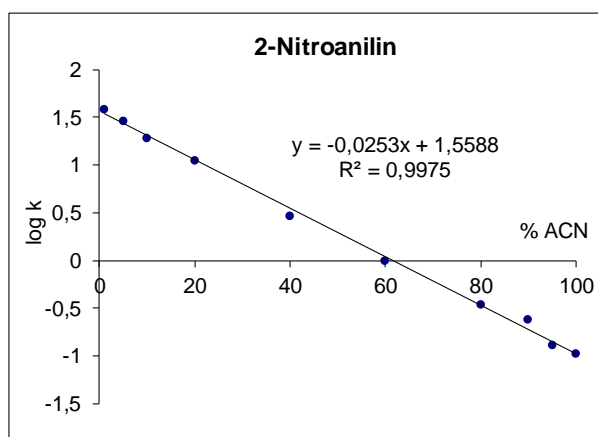
m)



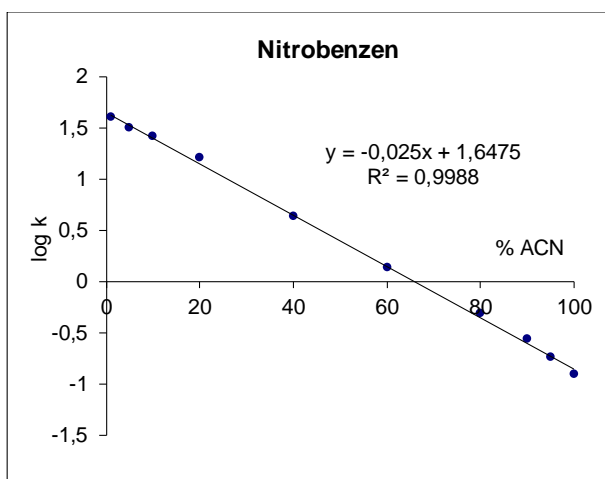
n)



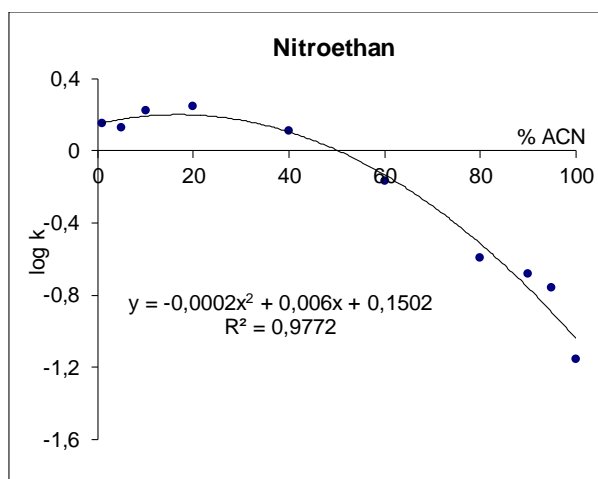
o)



p)



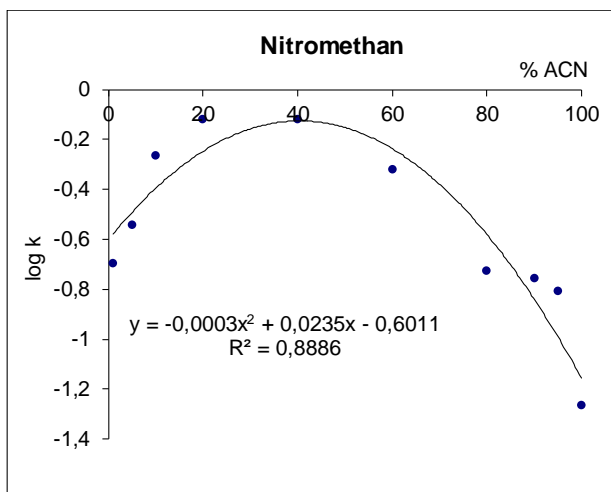
q)



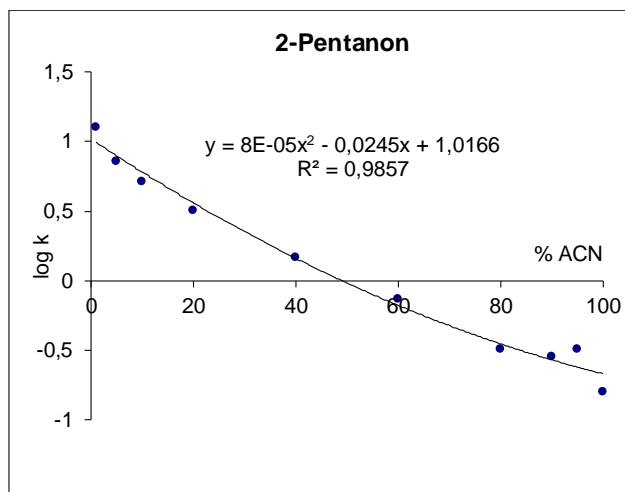
r)

Obr. P2 m,n,o,p,q,r)

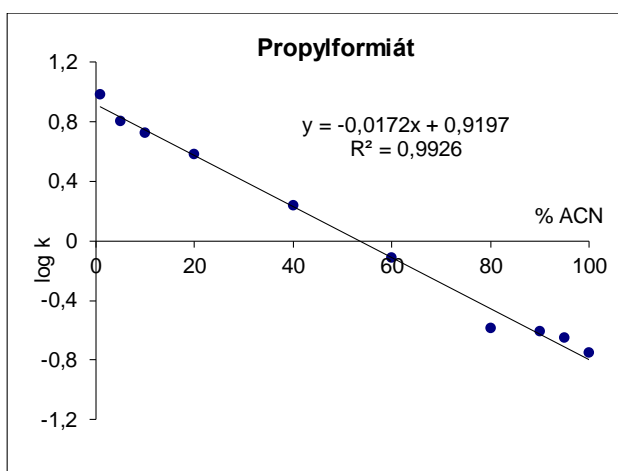
Závislost měřené retence ($\log k$) látek na objemových procentech acetonitrilu (% ACN) v mobilní fázi proložená regresní funkcí: m) Fenol, n) Chloroform, o) o-Kresol, p) 2-Nitroanilin, q) Nitrobenzen, r) Nitroethan. V rovnici R^2 je koeficient determinace, y odpovídá $\log k$, x popisuje % acetonitrilu



s)



t)



u)

Obr. P2 s,t,u)

Závislost měřené retence ($\log k$) látek na objemových procentech acetonitrilu (% ACN) v mobilní fázi proložená regresní funkcí: s) Nitromethan, t) 2-Pentanon, u) Propylformiát. V rovnici R^2 je koeficient determinace, y odpovídá $\log k$, x popisuje % acetonitrilu

Tabulka P5a)

Výsledky MLR modelu LSER pro mobilní fázi methanol-voda: v , s , a , b , c jsou regresní koeficienty, SE je chyba jejich odhadu, F je hodnota F -statistiky, R^2 je koeficient determinace, $SE(y)$ je chyba odhadu závisle proměnné y ($\log k$), Q^2 je predikovaný koeficient determinace vypočtený metodou cross-validation leave-one-out, n je počet hodnot regrese (počet měřených látek)

% MeOH		v	s	a	b	c	F	R^2	$SE(y)$	Q^2	n
1	hodnota	4,082	-0,293	-0,600	-1,458	-1,168	142,7	0,983	0,088	0,950	15
	SE	0,181	0,127	0,128	0,201	0,134					
5	hodnota	3,841	-0,178	-0,554	-1,516	-1,182	75,5	0,968	0,113	0,896	15
	SE	0,233	0,163	0,166	0,260	0,173					
10	hodnota	3,750	-0,171	-0,506	-1,673	-1,178	85,4	0,972	0,105	0,908	15
	SE	0,215	0,151	0,153	0,240	0,160					
20	hodnota	3,220	-0,190	-0,403	-1,763	-0,934	161,5	0,982	0,076	0,951	17
	SE	0,137	0,089	0,100	0,138	0,100					
40	hodnota	2,355	-0,211	-0,314	-1,675	-0,678	79,1	0,961	0,088	0,911	18
	SE	0,155	0,100	0,114	0,154	0,112					
60	hodnota	1,593	-0,304	-0,309	-1,160	-0,586	38,9	0,907	0,093	0,844	21
	SE	0,162	0,083	0,120	0,140	0,109					
80	hodnota	1,020	-0,209	-0,297	-0,803	-0,808	51,0	0,927	0,055	0,847	21
	SE	0,096	0,049	0,071	0,083	0,065					
90	hodnota	0,856	-0,151	-0,374	-0,531	-1,117	11,1	0,735	0,090	0,395	21
	SE	0,158	0,081	0,116	0,136	0,106					
95	hodnota	0,792	-0,188	-0,403	-0,414	-1,200	4,4	0,524	0,137	0,000	21
	SE	0,240	0,123	0,177	0,206	0,161					
100	hodnota	0,547	-0,167	-0,496	-0,095	-1,253	3,5	0,464	0,134	0,000	21
	SE	0,234	0,120	0,172	0,201	0,157					

Tabulka P5b)

Výsledky MLR modelu LSER pro mobilní fázi acetonitril-voda: v , s , a , b , c jsou regresní koeficienty, SE je chyba jejich odhadu, F je hodnota F -statistiky, R^2 je koeficient determinace, $SE(y)$ je chyba odhadu závisle proměnné y ($\log k$), Q^2 je predikovaný koeficient determinace vypočtený metodou cross-validation leave-one-out, n je počet hodnot regrese (počet měřených látek)

% ACN		v	s	a	b	c	F	R^2	$SE(y)$	Q^2	n
1	hodnota	4,379	-0,365	-0,586	-1,536	-1,437	94,1	0,967	0,132	0,910	18
	SE	0,233	0,151	0,171	0,231	0,169					
5	hodnota	4,012	-0,270	-0,441	-2,099	-1,177	224,4	0,986	0,082	0,964	18
	SE	0,145	0,094	0,107	0,144	0,105					
10	hodnota	3,355	-0,185	-0,433	-2,361	-0,724	426,5	0,992	0,053	0,984	18
	SE	0,094	0,061	0,069	0,093	0,068					
20	hodnota	2,711	-0,130	-0,449	-2,480	-0,385	505,4	0,994	0,044	0,987	18
	SE	0,078	0,050	0,057	0,077	0,056					
40	hodnota	1,603	-0,059	-0,433	-1,913	-0,191	157,8	0,977	0,058	0,957	20
	SE	0,103	0,063	0,075	0,094	0,070					
60	hodnota	1,053	-0,253	-0,391	-1,088	-0,244	29,7	0,881	0,091	0,767	21
	SE	0,160	0,082	0,118	0,137	0,107					
80	hodnota	0,756	-0,131	-0,377	-0,684	-0,664	11,0	0,733	0,097	0,534	21
	SE	0,170	0,087	0,126	0,146	0,114					
90	hodnota	0,302	-0,151	-0,332	-0,182	-0,588	3,3	0,453	0,108	0,000	21
	SE	0,190	0,097	0,140	0,163	0,127					
95	hodnota	-0,010	-0,208	-0,327	0,348	-0,589	5,0	0,558	0,104	0,074	21
	SE	0,182	0,094	0,134	0,157	0,122					
100	hodnota	-0,008	0,042	-0,043	0,931	-1,192	2,5	0,381	0,244	0,000	21
	SE	0,427	0,219	0,315	0,367	0,287					

Tabulka P6a)

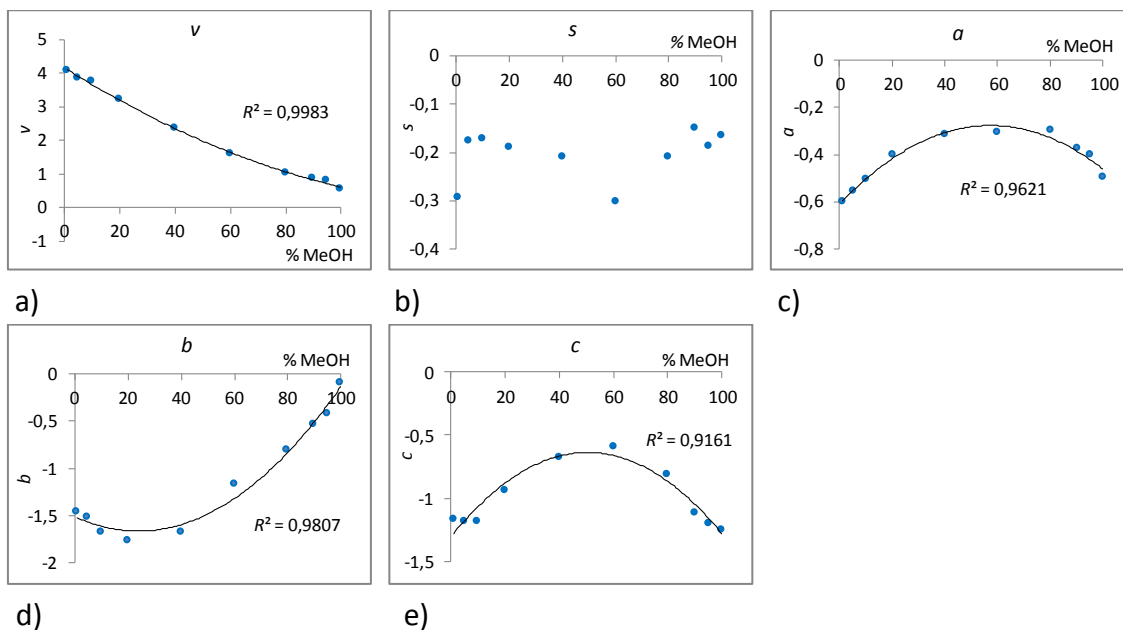
Výsledky MLR kombinovaného modelu LSER_{LST} pro mobilní fázi methanol-voda: v , s , a , b , c jsou regresní koeficienty, SE je chyba jejich odhadu, F je hodnota F -statistiky, R^2 je koeficient determinace, $SE(y)$ je chyba odhadu závisle proměnné y (log k), n je počet hodnot regrese (počet měřených látek)

% MeOH		v	s	a	b	c	F	R^2	$SE(y)$	n
1	hodnota	4,082	-0,192	-0,594	-1,552	-1,259	90,5	0,973	0,110	15
	SE	0,226	0,159	0,161	0,252	0,168				
5	hodnota	3,891	-0,190	-0,548	-1,598	-1,178	99,7	0,976	0,100	15
	SE	0,206	0,144	0,146	0,229	0,153				
10	hodnota	3,658	-0,187	-0,496	-1,642	-1,086	110,2	0,978	0,090	15
	SE	0,185	0,129	0,131	0,206	0,137				
20	hodnota	3,162	-0,227	-0,393	-1,623	-0,891	168,4	0,982	0,073	17
	SE	0,130	0,085	0,095	0,131	0,095				
40	hodnota	2,399	-0,227	-0,318	-1,644	-0,699	110,1	0,971	0,075	18
	SE	0,132	0,085	0,097	0,131	0,096				
60	hodnota	1,658	-0,291	-0,310	-1,248	-0,629	31,6	0,888	0,108	21
	SE	0,189	0,097	0,139	0,162	0,127				
80	hodnota	1,063	-0,197	-0,336	-0,858	-0,864	29,0	0,879	0,076	21
	SE	0,133	0,068	0,098	0,115	0,089				
90	hodnota	0,814	-0,176	-0,382	-0,528	-1,050	10,9	0,732	0,092	21
	SE	0,161	0,083	0,119	0,139	0,108				
95	hodnota	0,702	-0,173	-0,414	-0,329	-1,160	5,7	0,589	0,110	21
	SE	0,192	0,098	0,141	0,165	0,129				
100	hodnota	0,599	-0,174	-0,451	-0,108	-1,282	3,341	0,455	0,132	21
	SE	0,231	0,118	0,170	0,198	0,155				

Tabulka P6b)

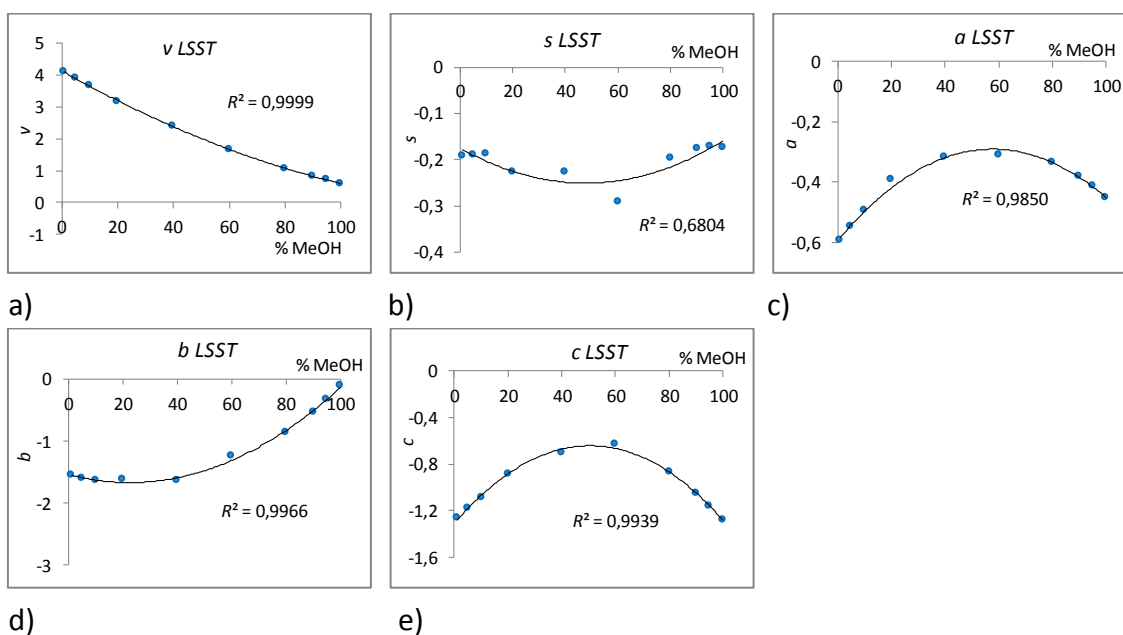
Výsledky MLR kombinovaného modelu LSER_{LSST} pro mobilní fázi acetonitril-voda: v , s , a , b , c jsou regresní koeficienty, SE je chyba jejich odhadu, F je hodnota F -statistiky, R^2 je koeficient determinace, $SE(y)$ je chyba odhadu závisle proměnné y (log k), n je počet hodnot regrese (počet měřených látek)

% ACN		v	s	a	b	c	F	R^2	$SE(y)$	n
1	hodnota	3,840	-0,255	-0,350	-1,851	-1,065	18,6	0,851	0,272	18
	SE	0,479	0,309	0,352	0,475	0,347				
5	hodnota	3,579	-0,230	-0,365	-1,959	-0,917	20,8	0,865	0,243	18
	SE	0,429	0,277	0,316	0,425	0,311				
10	hodnota	3,266	-0,200	-0,382	-2,066	-0,751	24,1	0,881	0,212	18
	SE	0,374	0,242	0,275	0,371	0,271				
20	hodnota	2,689	-0,148	-0,407	-2,187	-0,486	32,1	0,908	0,164	18
	SE	0,290	0,187	0,213	0,287	0,210				
40	hodnota	1,734	-0,060	-0,434	-2,034	-0,249	56,4	0,938	0,104	20
	SE	0,183	0,113	0,134	0,167	0,124				
60	hodnota	1,110	-0,225	-0,404	-1,233	-0,268	23,9	0,857	0,110	21
	SE	0,192	0,098	0,141	0,165	0,129				
80	hodnota	0,620	-0,164	-0,334	-0,274	-0,660	6,9	0,632	0,087	21
	SE	0,152	0,078	0,112	0,130	0,102				
90	hodnota	0,460	-0,151	-0,280	0,360	-0,961	2,7	0,403	0,139	21
	SE	0,243	0,125	0,180	0,209	0,163				
95	hodnota	0,402	-0,149	-0,249	0,716	-1,137	3,3	0,450	0,180	21
	SE	0,315	0,162	0,232	0,271	0,211				
100	hodnota	0,357	-0,150	-0,214	1,098	-1,331	4,0	0,499	0,228	21
	SE	0,399	0,205	0,295	0,343	0,268				



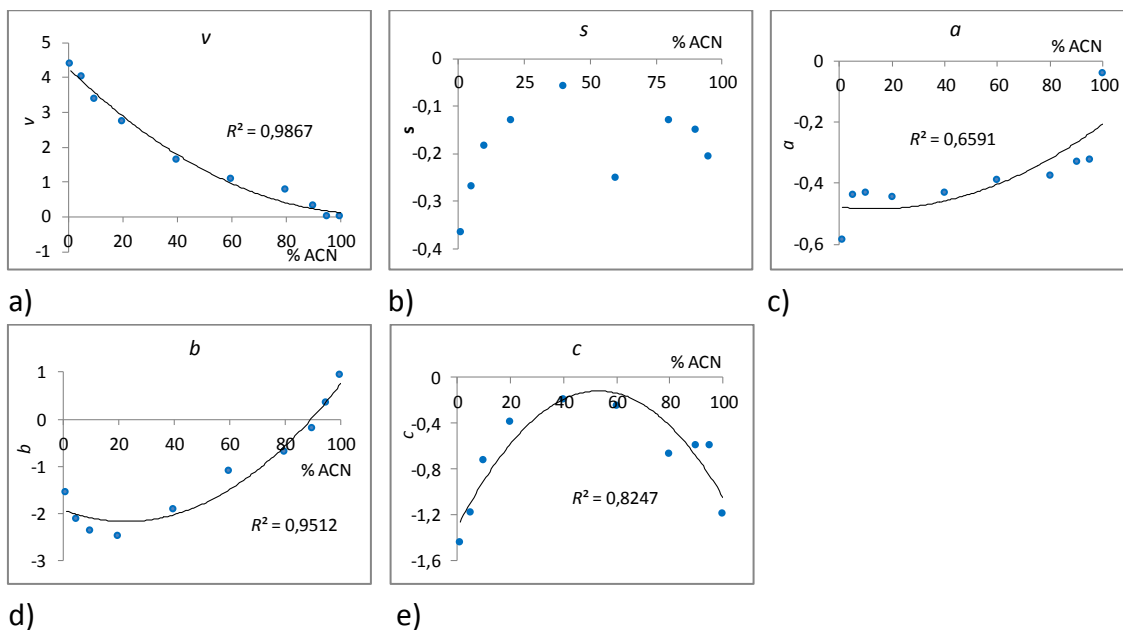
Obr. P3a-e)

Závislosti regresních koeficientů LSER modelu na obj. zlomku methanolu v mobilní fázi proložených kvadratickou funkcí: a) regresní koeficient v , b) regresní koeficient s , c) regresní koeficient a , d) regresní koeficient b , e) regresní koeficient c



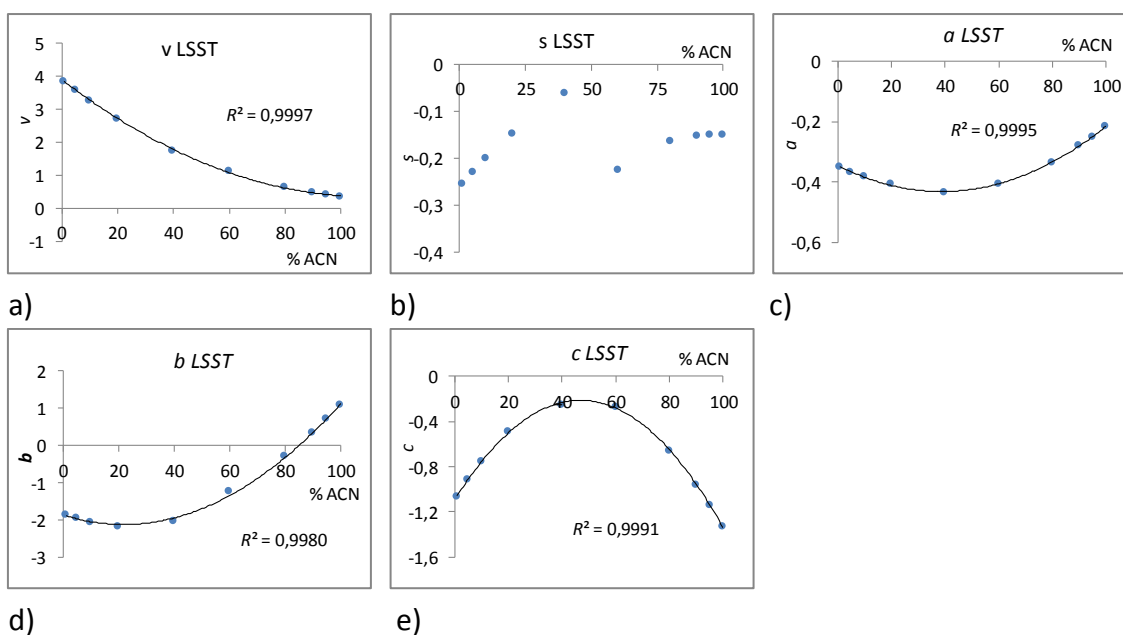
Obr. P4a-e)

Závislosti regresních koeficientů kombinovaného modelu $LSER_{LSST}$ na obj. zlomku methanolu v mobilní fázi proložených kvadratickou funkcí: a) regresní koeficient v , b) regresní koeficient s , c) regresní koeficient a , d) regresní koeficient b , e) regresní koeficient c



Obr. P5a-e)

Závislosti regresních koeficientů LSER modelu na obj. zlomku acetonitrilu v mobilní fázi proložených kvadratickou funkcí: a) regresní koeficient v , b) regresní koeficient s , c) regresní koeficient a , d) regresní koeficient b , e) regresní koeficient c



Obr. P6a-e)

Závislosti regresních koeficientů kombinovaného modelu $LSER_{LSST}$ na obj. zlomku acetonitrilu v mobilní fázi proložených kvadratickou funkcí: a) regresní koeficient v , b) regresní koeficient s , c) regresní koeficient a , d) regresní koeficient b , e) regresní koeficient c

Tabulka P7

Hodnoty F -statistiky regrese LSER modelu pro skupiny látek aromatických (Arom), alifatických (Alif), kyslíkatých derivátů (O) a dusíkatých derivátů (N) v daném složení mobilní fáze: a) methanol-voda, b)acetonitril-voda

a)					b)				
% MeOH	F-hodnota regrese				% ACN	F-hodnota regrese			
	Arom	Alif	(O)	(N)		Arom	Alif	(O)	(N)
1	65,7	82,3	24,0	434,5	1	16,4	19,0	33,3	269,5
5	9,9	28,0	49,9	5262,8	5	36,0	60,4	59,6	454,4
10	9,4	27,1	87,7	2378,5	10	84,0	1896,2	88,7	494,2
20	22,6	33,0	145,2	357,2	20	315,6	145,9	89,5	666,5
40	103,9	15,1	21,4	1153,4	40	385,4	60,4	14,5	614,3
60	45,8	9,6	1,0	101,6	60	219,3	8,7	3,5	375,7
80	39,9	32,4	5,0	2494,0	80	262,5	2,8	1,4	42,7
90	18,7	1,6	39,1	7,5	90	17,7	1,0	1,9	3,3
95	22,4	1,4	1,8	5,9	95	4,0	2,4	4,0	191,4
100	5,5	1,7	0,7	1,6	100	1,4	2,7	4,9	61,7

Tabulka P8

Seznam vypočtených hodnot deskriptorů L_{HS} , $L_{HS \text{ no cis}}$, L_{PB} , E_{calc} všech C5-C7 alkenů a experimentálních deskriptorů L , E , S , B z databáze ADME (ADME Absolv 2.0) pro některé alkeny

Název	Vypočtené deskriptory				Experimentální deskriptory ADME			
	L_{HS}	$L_{HS \text{ no cis}}$	L_{PB}	E_{calc}	L	E	S	B
1 3-Methylbut-1-en	1,900	1,900	1,934	0,062	1,933	0,063	0,06	0,05
2 Pent-1-en	2,097	2,097	2,162	0,093	2,047	0,093	0,08	0,07
3 2-Methylbut-1-en	2,089	2,089	2,139	0,119	2,097	0,120	0,09	0,07
4 E-Pent-2-en	2,190	2,190	2,209	0,126	2,187	0,126	0,08	0,07
5 Z-Pent-2-en	2,302	2,190	2,209	0,141	2,217	0,141	0,08	0,07
6 3,3-Dimethylbut-1-en	2,216	2,216	2,249	0,037	2,201	0,037	0,07	0,11
7 2-Methylbut-2-en	2,182	2,182	2,186	0,158	2,229	0,159	0,09	0,08
8 4-Methylpent-1-en	2,402	2,402	2,433	0,070	2,418	0,070	0,08	0,04
9 3-Methylpent-1-en	2,402	2,402	2,433	0,076	2,425	0,076	0,08	0,06
10 Z-4-Methylpent-2-en	2,607	2,495	2,480	0,056	2,444	0,095	0,08	0,08
11 2,3-Dimethylbut-1-en	2,513	2,513	2,410	0,106	2,455	0,152	0,07	0,13
12 E-4-methylpent-2-en	2,495	2,495	2,480	0,098	2,465	0,100	1,08	0,08
13 2-Methylpent-1-en	2,591	2,591	2,638	0,115	2,591	0,090	-	0,08
14 Hex-1-en	2,599	2,599	2,661	0,095	2,572	0,078	0,08	0,07
15 2-Ethylbut-1-en	2,591	2,591	2,638	0,139	2,624	0,140	0,08	0,08
16 E-Hex-3-en	2,692	2,692	2,708	0,125	2,659	0,126	0,08	0,06
17 Z-Hex-3-en	2,804	2,692	2,708	0,130	2,664	0,128	0,08	0,07
18 E-Hex-2-en	2,692	2,692	2,708	0,123	2,655	0,122	0,08	0,07
19 2-Methylpent-2-en	2,684	2,684	2,685	0,156	2,687	0,160	0,08	0,07
20 Z-3-Methylpent-2-en	2,796	2,684	2,685	0,162	2,706	0,180	0,08	0,08
21 4,4-Dimethylpent-1-en	2,718	2,718	2,748	0,049	-	-	-	-
22 Z-Hex-2-en	2,804	2,692	2,708	0,115	2,684	0,143	0,08	0,07
23 E-3-Methylpent-2-en	2,684	2,684	2,685	0,176	2,760	0,160	0,08	0,08
24 E-4,4-Dimethylpent-2-en	2,811	2,811	2,795	0,087	-	-	-	-
25 3,3-Dimethylpent-1-en	2,718	2,718	2,748	0,088	2,806	0,088	-	-
26 2,3-Dimethylbut-2-en	2,676	2,676	2,662	0,213	2,797	0,213	0,09	0,13
27 2,3,3-Trimethylbut-1-en	2,829	2,829	2,725	0,114	2,820	0,113	-	-
28 Z-4,4-Dimethylpent-2-en	2,923	2,811	2,795	0,111	-	-	-	-
29 3,4-Dimethylpent-1-en	2,826	2,826	2,704	0,092	-	-	-	-
30 2,4-Dimethylpent-1-en	2,896	2,896	2,909	0,089	2,874	0,090	-	-
31 Z-2-Methylhex-3-en	3,109	2,997	2,979	0,092	-	-	-	-
32 2,4-Dimethylpent-2-en	2,989	2,989	2,956	0,119	-	-	-	-
33 3-Methyl-1-hexen	2,904	2,904	2,932	0,080	-	-	-	-
34 3-Ethylpent-1-en	2,904	2,904	2,932	0,085	-	-	-	-
35 E-2-Methylhex-3-en	2,997	2,997	2,979	0,097	-	-	-	-
36 2,3-Dimethylpent-1-en	3,015	3,015	2,909	0,115	2,936	0,120	-	-

Název	Vypočtené deskriptory				Experimentální deskriptory ADME			
	<i>L_{HS}</i>	<i>L_{HS} no cis</i>	<i>L_{PB}</i>	<i>E_{calc}</i>	<i>L</i>	<i>E</i>	<i>S</i>	<i>B</i>
37 5-Methylhex-1-en	2,904	2,904	2,932	0,078	-	-	-	-
38 Z-4-Methylhex-2-en	3,109	2,997	2,979	0,111	-	-	-	-
39 E-4-Methylhex-2-en	2,997	2,997	2,979	0,111	-	-	-	-
40 4-Methylhex-1-en	2,904	2,904	2,932	0,102	-	-	-	-
41 2-Ethyl-3-methylbut-1-en	3,015	3,015	2,909	0,153	-	-	-	-
42 E-5-Methylhex-2-en	2,997	2,997	2,979	0,100	-	-	-	-
43 Z-5-Methylhex-2-en	3,109	2,997	2,979	0,119	-	-	-	-
44 Z-3,4-Dimethylpent-2-en	3,220	3,108	2,956	0,126	-	-	-	-
45 2-Methylhex-1-ene	3,093	3,093	3,137	0,116	-	-	-	-
46 E-3,4-Dimethylpent-2-en	3,108	3,108	2,956	0,136	-	-	-	-
47 Hept-1-en	3,101	3,101	3,160	0,096	3,063	0,092	0,08	0,07
48 2-Ethylpent-1-en	3,093	3,093	3,137	0,125	3,107	0,130	-	-
49 Z-Methylhex-3-en	3,298	3,186	3,184	0,167	-	-	-	-
50 E-Hept-3-en	3,194	3,194	3,207	0,119	3,125	0,121	0,08	0,07
51 Z-Hept-3-en	3,306	3,194	3,207	0,130	3,143	0,130	0,08	0,07
52 2-Methylhex-2-en	3,186	3,186	3,184	0,156	-	-	-	-
53 E-3-Methylhex-3-en	3,186	3,186	3,184	0,160	-	-	-	-
54 Z-3-Methylhex-2-en	3,298	3,186	3,184	0,167	-	-	-	-
55 3-Ethylpen-2-ten	3,186	3,186	3,184	0,180	-	-	-	-
56 E-Hept-2-en	3,194	3,194	3,207	0,136	3,180	0,119	0,08	0,07
57 E-3-Methylhex-2-en	3,186	3,186	3,184	0,153	-	-	-	-
58 2,3-Dimethylpent-2-en	3,178	3,178	3,161	0,213	-	-	-	-
59 Z-Hept-2-en	3,306	3,194	3,207	0,119	3,210	0,136	0,08	0,07

Tabulka P9

Seznam všech C5-C7 alkenů a jejich měřený retenční index na skvalanu (RI_{SQ}) a polydimethylsiloxanu (RI_{PDMS}) podle [145], dále vypočtený retenční index modelem HS (RI_{HS} a $RI_{HS PDMS}$) a modelem PB ($RI_{PB SQ}$ a $RI_{PB PDMS}$)

název	Měřená retence		Vypočtená retence			
	RI_{SQ}	RI_{PDMS}	$RI_{HS SQ}$	$RI_{PB SQ}$	$RI_{HS PDMS}$	$RI_{PB PDMS}$
1 3-Methylbut-1-en	450,1	457,1	450,4	451,9	457,5	459,1
2 Pent-1-en	481,1	489,0	489,0	498,2	496,6	505,9
3 2-Methylbut-1-en	488,2	495,6	489,5	496,6	496,9	504,2
4 E-Pent-2-en	500,7	507,6	508,6	510,5	516,3	518,3
5 Z-Pent-2-en	504,6	515,3	509,7	512,2	517,4	519,8
6 3,3-Dimethylbut-1-en	505,3	513,9	507,0	508,8	515,0	516,9
7 2-Methylbut-2-en	513,8	520,2	509,5	509,6	517,0	517,2
8 4-Methylpent-1-en	548,1	556,2	543,8	547,0	552,1	555,4
9 3-Methylpent-1-en	549,7	557,6	544,2	547,6	552,5	556,0
10 Z-4-Methylpent-2-en	555,5	567,5	560,0	554,5	568,6	563,0
11 2,3-Dimethylbut-1-en	557,6	566,1	566,9	546,5	575,4	554,8
12 E-4-methylpent-2-en	561,9	570,4	563,0	558,9	571,5	567,3
13 2-methylpent-1-en	579,4	588,0	582,0	590,6	590,7	599,3
14 Hex-1-en	581,5	589,0	582,1	592,8	590,8	601,7
15 2-Ethylbut-1-en	592,1	599,0	583,8	593,1	592,4	601,9
16 E-Hex-3-en	592,1	603,2	601,4	604,8	610,3	613,8
17 Z-Hex-3-en	592,1	602,2	601,8	605,4	610,6	614,3
18 E-Hex-2-en	596,8	604,9	601,3	604,6	610,2	613,6
19 2-Methylpent-2-en	597,7	607,3	602,2	603,8	611,0	612,6
20 Z-3-Methylpent-2-en	601,8	610,2	602,6	604,4	611,4	613,2
21 4,4-Dimethylpent-1-en	602,3	610,4	600,7	604,4	609,8	613,6
22 Z-Hex-2-en	602,7	614,0	600,7	603,8	609,6	612,8
23 E-3-Methylpent-2-en	612,2	620,2	603,7	605,9	612,4	614,6
24 E-4,4-Dimethylpent-2-en	614,8	625,5	620,6	617,3	629,9	626,5
25 3,3-Dimethylpent-1-en	623,7	630,1	603,5	608,5	612,6	617,6
26 2,3-Dimethylbut-2-en	624,2	630,4	604,9	605,5	613,5	614,1
27 2,3,3-Trimethylbut-1-en	626,0	633,3	625,9	606,9	635,2	615,9
28 Z-4,4-Dimethylpent-2-en	633,3	642,0	622,5	619,9	631,7	629,0
29 3,4-Dimethylpent-1-en	634,6	641,3	623,8	600,6	633,1	609,6
30 2,4-Dimethylpent-1-en	636,2	645,9	636,5	639,1	646,0	648,6
31 Z-2-Methylhex-3-en	639,9	651,9	655,5	652,7	665,2	662,3
32 2,4-Dimethylpent-2-en	641,2	654,9	656,0	651,2	665,6	660,7
33 3-Methyl-1-hexen	643,1	650,2	637,4	642,5	646,9	652,0
34 3-Ethylpent-1-en	644,7	653,4	637,8	643,1	647,3	652,6
35 E-2-Methylhex-3-en	647,4	660,5	655,8	653,2	665,5	662,8
36 2,3-Dimethylpent-1-en	648,3	657,6	660,5	641,9	670,2	651,3

název	Měřená retence		Vypočtená retence			
	RI_{SQ}	RI_{PDMS}	$RI_{HS\ SQ}$	$RI_{PB\ SQ}$	$RI_{HS\ PDMS}$	$RI_{PB\ PDMS}$
37 5-Methylhex-1-en	649,0	656,4	637,2	642,3	646,8	651,9
38 Z-4-Methylhex-2-en	653,6	665,8	656,9	654,7	666,5	664,3
39 E-4-Methylhex-2-en	655,4	665,8	656,8	654,6	666,5	664,2
40 4-Methylhex-1-en	655,6	663,3	639,0	644,8	648,5	654,4
41 2-Ethyl-3-methylbut-1-en	658,3	665,8	663,2	645,8	672,8	655,1
42 E-5-Methylhex-2-en	659,0	668,0	656,0	653,5	665,7	663,1
43 Z-5-Methylhex-2-en	668,3	679,0	657,4	655,5	667,1	665,1
44 Z-3,4-Dimethylpent-2-en	669,4	678,9	678,5	651,9	688,3	661,4
45 2-Methylhex-1-ene	677,4	685,9	675,0	685,1	684,9	695,1
46 E-3,4-Dimethylpent-2-en	677,4	687,6	679,2	652,9	689,0	662,4
47 Hept-1-en	681,1	688,6	675,0	687,3	684,9	697,3
48 2-Ethylpent-1-en	681,1	689,3	675,6	686,0	685,4	695,9
49 Z-Methylhex-3-en	684,0	694,6	695,9	699,4	705,8	709,3
50 E-Hept-3-en	687,4	698,4	693,9	698,6	704,0	708,8
51 Z-Hept-3-en	689,6	701,1	694,7	699,8	704,8	709,9
52 2-Methylhex-2-en	691,0	702,4	695,1	698,2	705,1	708,2
53 E-3-Methylhex-3-en	691,2	703,4	695,4	698,6	705,3	708,6
54 Z-3-Methylhex-2-en	692,0	701,4	695,9	699,4	705,8	709,3
55 3-Ethylpen-2-ten	696,3	706,2	696,8	700,6	706,7	710,6
56 E-Hept-2-en	698,2	705,1	695,1	700,4	705,2	710,5
57 E-3-Methylhex-2-en	699,5	709,2	694,9	697,8	704,8	707,8
58 2,3-Dimethylpent-2-en	702,1	712,8	697,8	699,8	707,5	709,6
59 Z-Hept-2-en	702,1	712,8	693,9	698,6	704,0	708,8

Tab. P10

Seznam vypočtených hodnot deskriptorů L_{HS} , $L_{HS\ no\ cis}$, L_{PB} , E_{calc} všech 93 oktenů a vypočtených deskriptorů L , E , S , B (deskriptory ADME calc) pomocí programu ADME Absolv 2.0

Název	$L_{HS\ no\ cis}$	L_{HS}	L_{PB}	E_{calc}	Deskriptory ADME calc			
					L	E	S	B
1 Z-2,5-Dimethylhex-3-en	3,302	3,414	3,250	0,035	3,481	0,17	0,27	0,17
2 3,4,4-Trimethylpent-1-en	3,179	3,179	3,039	0,117	3,210	0,11	0,17	0,16
3 3,5-Dimethylhex-1-en	3,209	3,209	3,203	0,065	3,429	0,14	0,23	0,15
4 2,4,4-Trimethylpent-1-en	3,212	3,212	3,224	0,096	3,189	0,08	0,13	0,15
5 E-2,2-Dimethylhex-3-en	3,313	3,313	3,294	0,081	3,377	0,14	0,23	0,15
6 5,5-Dimethylhex-1-en	3,220	3,220	3,247	0,069	3,325	0,10	0,19	0,13
7 E-2,5-Dimethylhex-3-en	3,302	3,302	3,250	0,077	3,481	0,17	0,27	0,17
8 E-5,5-Dimethylhex-2-en	3,313	3,313	3,294	0,074	3,377	0,14	0,23	0,15
9 3,3-Dimethylhex-1-en	3,220	3,220	3,247	0,090	3,325	0,10	0,19	0,13
10 2-Izopropyl-3-methylbut-1-en	3,320	3,320	3,180	0,093	3,294	0,12	0,17	0,17
11 Z-2,2-Dimethylhex-3-en	3,313	3,425	3,294	0,102	3,377	0,14	0,23	0,15
12 3,3,4-Trimethylpent-1-en	3,142	3,142	3,019	0,131	3,210	0,11	0,17	0,16
13 2,4,4-Trimethylpent-2-en	3,305	3,305	3,271	0,140	3,241	0,11	0,18	0,16
14 4,4-Dimethylhex-1-en	3,220	3,220	3,247	0,104	3,325	0,10	0,19	0,13
15 2,3,4-Trimethylpent-1-en	3,439	3,439	3,180	0,135	3,294	0,12	0,17	0,17
16 3-Ethyl-4-methylpent-1-en	3,328	3,328	3,203	0,101	3,429	0,14	0,23	0,15
17 Z-5,5-Dimethylhex-2-en	3,313	3,425	3,294	0,111	3,377	0,14	0,23	0,15
18 E-4,4-Dimethylhex-2-en	3,313	3,313	3,294	0,122	3,377	0,14	0,23	0,15
19 Z-2,4-Dimethylhex-3-en	3,491	3,603	3,455	0,128	3,460	0,14	0,23	0,16
20 E-2,4-Dimethylhex-3-en	3,491	3,491	3,455	0,119	3,460	0,14	0,23	0,16
21 2-Ethyl-3,3-dimethylbut-1-en	3,331	3,331	3,224	0,142	3,189	0,08	0,13	0,15
22 2,3,3-Trimethylpent-1-en	3,331	3,331	3,224	0,150	3,189	0,08	0,13	0,15
23 E-4,5-Dimethylhex-2-en	3,421	3,421	3,250	0,123	3,481	0,17	0,27	0,17
24 3-Ethyl-3-methylpent-1-en	3,220	3,220	3,247	0,154	3,325	0,10	0,19	0,13
25 a-3,4-Dimethylhex-1-en	3,328	3,328	3,203	0,122	3,429	0,14	0,23	0,15
26 3-Ethylhex-1-en	3,406	3,406	3,431	0,084	3,544	0,13	0,24	0,13
27 b-3,4-Dimethylhex-1-en	3,328	3,328	3,203	0,122	3,429	0,14	0,23	0,15
28 2,4-Dimethylhex-2-en	3,491	3,491	3,455	0,114	3,460	0,14	0,23	0,16
29 2-Ethyl-4-methylpent-1-en	3,398	3,398	3,408	0,106	3,408	0,11	0,18	0,14
30 Z-4,5-Dimethylhex-2-en	3,421	3,533	3,250	0,122	3,481	0,17	0,27	0,17
31 2,3-Dimethylhex-1-en	3,517	3,517	3,408	0,110	3,408	0,11	0,18	0,14
32 Z-2-Methylhept-3-en	3,499	3,611	3,478	0,084	3,596	0,16	0,28	0,14
33 4,5-Dimethylhex-1-en	3,328	3,328	3,203	0,128	3,429	0,14	0,23	0,15
34 3-Methylhept-1-en	3,406	3,406	3,431	0,081	3,544	0,13	0,24	0,13
35 Z-6-Methylhept-3-en	3,499	3,611	3,478	0,112	3,596	0,16	0,28	0,14
36 2,4-Dimethylhex-1-en	3,398	3,398	3,408	0,109	3,408	0,11	0,18	0,14

pokračování tabulky P10

Název	$L_{HS\ no\ cis}$	L_{HS}	L_{PB}	E_{calc}	Deskriptory ADME calc			
					L	E	S	B
37 2,5-Dimethylhex-1-en	3,398	3,398	3,408	0,106	3,408	0,11	0,18	0,14
38 E-4-Ethylhex-2-en	3,499	3,499	3,478	0,116	3,596	0,16	0,28	0,14
39 Z-4,4-Dimethylhex-2-en	3,313	3,425	3,294	0,122	3,377	0,14	0,23	0,15
40 2-Izopropylpent-1-en	3,398	3,398	3,408	0,128	3,408	0,11	0,18	0,14
41 3-Ethyl-2-methylpent-1-en	3,517	3,517	3,408	0,118	3,408	0,11	0,18	0,14
42 6-Methylhept-1-en	3,406	3,406	3,431	0,083	3,544	0,13	0,24	0,13
43 E-2-Methylhept-3-en	3,499	3,499	3,478	0,077	3,596	0,16	0,28	0,14
44 4-Methylhept-1-en	3,406	3,406	3,431	0,106	3,544	0,13	0,24	0,13
45 Z-4-Methylhept-2-en	3,499	3,611	3,478	0,100	3,596	0,16	0,28	0,14
46 2-Ethyl-3-methylpent-1-en	3,517	3,517	3,408	0,129	3,408	0,11	0,18	0,14
47 E-4-Methylhept-2-en	3,499	3,499	3,478	0,100	3,596	0,16	0,28	0,14
48 Z-4-Ethylhex-2-en	3,499	3,611	3,478	0,116	3,596	0,16	0,28	0,14
49 E-3,4,4-Trimethylpent-2-en	3,424	3,424	3,271	0,187	3,241	0,11	0,18	0,16
50 5-Methylhept-1-en	3,406	3,406	3,431	0,105	3,544	0,13	0,24	0,13
51 E-6-Methylhept-3-en	3,499	3,499	3,478	0,084	3,596	0,16	0,28	0,14
52 Z-3,5-Dimethylhex-2-en	3,491	3,603	3,455	0,141	3,460	0,14	0,23	0,16
53 2,5-Dimethylhex-2-ene	3,491	3,491	3,455	0,128	3,460	0,14	0,23	0,16
54 E-3,5-Dimethylhex-2-en	3,491	3,491	3,455	0,141	3,460	0,14	0,23	0,16
55 4-Ethylhex-1-en	3,406	3,406	3,431	0,109	3,544	0,13	0,24	0,13
56 Z-3,4-Dimethylhex-2-en	3,610	3,722	3,455	0,154	3,460	0,14	0,23	0,16
57 Z-2,3-Dimethylhex-3-en	3,610	3,722	3,455	0,141	3,460	0,14	0,23	0,16
58 Z-5-Methylhept-3-en	3,499	3,611	3,478	0,103	3,596	0,16	0,28	0,14
59 Z-3,4,4-Trimethylpent-2-en	3,424	3,536	3,271	0,187	3,241	0,11	0,18	0,16
60 E-2,3-Dimethylhex-3-en	3,610	3,610	3,455	0,141	3,460	0,14	0,23	0,16
61 E-5-Methylhept-3-en	3,499	3,499	3,478	0,103	3,596	0,16	0,28	0,14
62 Z-3-Ethyl-4-methylpent-2-en	3,610	3,722	3,455	0,191	3,460	0,14	0,23	0,16
63 E-3,4-Dimethylhex-2-en	3,610	3,610	3,455	0,160	3,460	0,14	0,23	0,16
64 E-6-Methylhept-2-en	3,499	3,499	3,478	0,109	3,596	0,16	0,28	0,14
65 E-5-Methylhept-2-en	3,499	3,499	3,478	0,128	3,596	0,16	0,28	0,14
66 Z-6-Methylhept-2-en	3,499	3,611	3,478	0,116	3,596	0,16	0,28	0,14
67 E-3-Ethyl-4-methylpent-2-en	3,610	3,610	3,455	0,172	3,460	0,14	0,23	0,16
68 2-Propylpent-1-en	3,595	3,595	3,636	0,117	3,523	0,10	0,20	0,12
69 2,3,4-Trimethylpent-2-en	3,721	3,721	3,432	0,213	3,325	0,12	0,17	0,17
70 2-Methylhept-1-en	3,595	3,595	3,636	0,115	3,523	0,10	0,20	0,12
71 Z-4-Methylhept-3-en	3,688	3,800	3,683	0,161	3,575	0,13	0,24	0,13
72 Z-5-Methylhept-2-en	3,499	3,611	3,478	0,157	3,596	0,16	0,28	0,14
73 3-Ethylhex-3-en	3,686	3,686	3,713	0,165	3,575	0,13	0,24	0,13
74 2-Ethylhex-1-en	3,595	3,595	3,636	0,136	3,523	0,10	0,20	0,12
75 Okt-1-en	3,603	3,603	3,659	0,093	3,659	0,12	0,26	0,10

pokračování tabulky P10

Název	$L_{HS\ no\ cis}$	L_{HS}	L_{PB}	E_{calc}	Deskriptory ADME calc			
					L	E	S	B
76 Z-3-Methylhept-3-en	3,688	3,800	3,683	0,154	3,575	0,13	0,24	0,13
77 E-3,4-Dimethylhex-3-en	3,680	3,680	3,660	0,213	3,440	0,11	0,18	0,14
78 E-4-Methylhept-3-en	3,688	3,688	3,683	0,150	3,575	0,13	0,24	0,13
79 3-Ethyl-2-methylpent-2-en	3,799	3,799	3,660	0,196	3,440	0,11	0,18	0,14
80 E-3-Ethylhex-2-en	3,688	3,688	3,683	0,195	3,575	0,13	0,24	0,13
81 Z-3-Ethylhex-2-en	3,688	3,800	3,683	0,195	3,575	0,13	0,24	0,13
82 E-Okt-4-en	3,696	3,696	3,706	0,117	3,711	0,15	0,30	0,11
83 Z-3,4-Dimethylhex-3-en	3,680	3,792	3,660	0,253	3,440	0,11	0,18	0,14
84 Z-3-Methylhept-2-en	3,688	3,800	3,683	0,167	3,575	0,13	0,24	0,13
85 E-3-Methylhept-3-en	3,688	3,688	3,683	0,154	3,575	0,13	0,24	0,13
86 E-Okt-3-en	3,696	3,696	3,706	0,119	3,711	0,15	0,30	0,11
87 Z-Okt-3-en	3,696	3,808	3,706	0,125	3,711	0,15	0,30	0,11
88 Z-Okt-4-en	3,696	3,808	3,706	0,133	3,711	0,15	0,30	0,11
89 2,3-Dimethylhex-2-en	3,680	3,680	3,660	0,209	3,440	0,11	0,18	0,14
90 2-Methylhept-2-en	3,688	3,688	3,683	0,147	3,575	0,13	0,24	0,13
91 E-Okt-2-en	3,696	3,696	3,706	0,123	3,711	0,15	0,30	0,11
92 E-3-Methylhept-2-en	3,688	3,688	3,683	0,155	3,575	0,13	0,24	0,13
93 Z-Okt-2-en	3,696	3,808	3,706	0,141	3,711	0,15	0,30	0,11

* sloučeniny 25 a 27 jsou diastereoismery (označení a b).

Tabulka P11

Seznam oktenů se známými experimentálními deskriptory z databáze programu ADME Absolv 2.0

Název	Experimentální deskriptory ADME			
	L	E	S	B
2,4,4-Trimethylpent-1-en	3,289	0,090	0,07	0,07
2,4,4-Trimethylpent-2-en	3,249	0,141	0,08	0,07
2-Ethylhex-1-en	3,510	0,140	0,08	0,07
Z-Okt-2-en	3,683	0,135	0,08	0,07
Okt-1-en	3,568	0,094	0,08	0,07
E-Okt-2-en	3,690	0,123	0,08	0,07
E-Okt-3-en	-	0,119	-	-
E-Okt-4-en	-	0,114	-	-
Z-Okt-3-en	-	0,125	-	0,07
Z-Okt-4-en	-	0,133	-	-

Tabulka P12

Seznam všech 93 oktenů a jejich měřený retenční index na skvalanu (RI_{SQ}) a polydimethylsiloxanu (RI_{PDMS}) podle [146], dále vypočtený retenční index modelem HS (RI_{HS}), modelem PB (RI_{PB}) a modelem ADME calc (RI_{adme}) podle rovnic (3.4.2.7) až (3.4.2.12)

Název	Experimentální		Skvalan vypočtená			PDMS vypočtená		
	RI_{SQ}	RI_{PDMS}	RI_{HS}	RI_{PB}	RI_{adme}	RI_{HS}	RI_{PB}	RI_{adme}
1 Z-2,5-Dimethylhex-3-en	683,9	696,6	714,5	706,3	723,0	723,5	714,8	734,3
2 3,4,4-Trimethylpent-1-en	698,4	704,2	706,5	700,6	708,9	714,3	708,7	718,3
3 3,5-Dimethylhex-1-en	699,5	707,0	705,1	707,6	733,5	713,2	716,1	743,9
4 2,4,4-Trimethylpent-1-en	701,5	708,6	708,7	717,0	725,8	716,8	725,8	734,4
5 E-2,2-Dimethylhex-3-en	693,2	710,5	720,8	721,6	722,6	729,8	730,7	732,9
6 5,5-Dimethylhex-1-en	704,4	711,5	707,0	713,5	740,1	715,2	722,3	749,4
7 E-2,5-Dimethylhex-3-en	695,5	713,6	719,0	715,8	723,0	727,9	724,7	734,3
8 E-5,5-Dimethylhex-2-en	706,2	716,8	720,1	720,2	722,6	729,1	729,2	732,9
9 3,3-Dimethylhex-1-en	712,3	718,0	709,2	718,3	740,1	717,4	727,3	749,4
10 2-Izopropyl-3-methylbut-1-en	709,3	720,3	723,1	711,4	719,4	732,1	720,0	729,1
11 Z-2,2-Dimethylhex-3-en	714,5	723,6	723,0	726,4	722,6	732,0	735,7	732,9
12 3,3,4-Trimethylpent-1-en	722,5	725,2	702,9	701,3	708,9	710,4	709,4	718,3
13 2,4,4-Trimethylpent-2-en	714,5	726,7	725,8	732,0	715,4	734,7	741,5	724,8
14 4,4-Dimethylhex-1-en	723,3	728,1	710,7	721,4	740,1	718,8	730,5	749,4
15 2,3,4-Trimethylpent-1-en	724,1	728,7	743,4	720,5	719,4	753,3	729,5	729,1
16 3-Ethyl-4-methylpent-1-en	720,8	731,8	724,9	715,7	733,5	734,0	724,5	743,9
17 Z-5,5-Dimethylhex-2-en	721,8	732,5	723,9	728,3	722,6	732,9	737,7	732,9
18 E-4,4-Dimethylhex-2-en	724,9	735,0	725,1	730,7	722,6	734,0	740,2	732,9
19 Z-2,4-Dimethylhex-3-en	724,9	737,3	749,8	750,5	740,0	760,1	760,9	750,4
20 E-2,4-Dimethylhex-3-en	727,9	739,6	748,9	748,6	740,0	759,2	758,9	750,4
21 2-Ethyl-3,3-dimethylbut-1-en	729,5	739,6	729,6	727,2	725,8	738,6	736,5	734,4
22 2,3,3-Trimethylpent-1-en	730,3	743,3	730,4	728,9	725,8	739,4	738,3	734,4
23 E-4,5-Dimethylhex-2-en	734,0	743,5	739,7	725,8	723,0	749,5	735,1	734,3
24 3-Ethyl-3-methylpent-1-en	740,1	744,3	715,8	732,4	740,1	723,9	741,9	749,4
25 a-3,4-Dimethylhex-1-en	737,9	744,3	727,1	720,3	733,5	736,1	729,3	743,9
26 3-Ethylhex-1-en	735,5	744,8	733,8	738,1	764,7	743,5	747,9	775,0
27 b-3,4-Dimethylhex-1-en	739,2	745,4	727,1	720,3	733,5	736,1	729,3	743,9
28 2,4-Dimethylhex-2-en	729,8	745,7	748,3	747,4	740,0	758,7	757,7	750,4
29 2-Ethyl-4-methylpent-1-en	731,2	745,7	734,9	740,2	750,4	744,5	750,2	760,0
30 Z-4,5-Dimethylhex-2-en	735,7	746,5	739,7	725,7	723,0	749,5	734,9	734,3
31 2,3-Dimethylhex-1-en	737,5	746,7	751,4	741,1	750,4	762,0	751,1	760,0
32 Z-2-Methylhept-3-en	735,7	747,2	746,3	743,3	754,2	756,7	753,4	765,4
33 4,5-Dimethylhex-1-en	740,8	747,4	727,7	721,7	733,5	736,8	730,8	743,9
34 3-Methylhept-1-en	739,0	747,9	733,4	737,2	764,7	743,1	747,1	775,0
35 Z-6-Methylhept-3-en	737,1	750,5	749,2	749,5	754,2	759,6	759,9	765,4
36 2,4-Dimethylhex-1-en	739,8	750,7	735,2	740,9	750,4	744,9	750,9	760,0

pokračování tabulky P12

Název	Experimentální		Skvalan vypočtená			PDMS vypočtená		
	<i>RI</i> ,SQ	<i>RI</i> ,PDMS	<i>RI</i> ,HS	<i>RI</i> ,PB	<i>RI</i> ,adme	<i>RI</i> ,HS	<i>RI</i> ,PB	<i>RI</i> ,adme
37 2,5-Dimethylhex-1-en	740,9	750,7	734,9	740,2	750,4	744,5	750,2	760,0
38 <i>E</i> -4-Ethylhex-2-en	740,5	753,5	749,5	750,3	754,2	760,0	760,7	765,4
39 <i>Z</i> -4,4-Dimethylhex-2-en	745,6	753,5	725,1	730,7	722,6	734,0	740,2	732,9
40 2-Izopropylpent-1-en	744,4	753,7	737,2	745,2	750,4	746,8	755,3	760,0
41 3-Ethyl-2-methylpent-1-en	746,7	754,3	752,3	742,9	750,4	762,8	753,0	760,0
42 6-Methylhept-1-en	746,2	754,4	733,6	737,6	764,7	743,3	747,5	775,0
43 <i>E</i> -2-Methylhept-3-en	741,0	754,8	745,6	741,9	754,2	756,1	751,9	765,4
44 4-Methylhept-1-en	747,5	755,1	736,0	742,9	764,7	745,7	752,9	775,0
45 <i>Z</i> -4-Methylhept-2-en	744,7	756,3	748,0	747,0	754,2	758,4	757,2	765,4
46 2-Ethyl-3-methylpent-1-en	748,5	756,9	753,4	745,4	750,4	764,0	755,6	760,0
47 <i>E</i> -4-Methylhept-2-en	748,6	757,3	748,0	747,0	754,2	758,4	757,2	765,4
48 <i>Z</i> -4-Ethylhex-2-en	748,5	758,7	749,5	750,3	754,2	760,0	760,7	765,4
49 <i>E</i> -3,4,4-Trimethylpent-2-en	745,1	759,1	746,8	742,5	715,4	756,6	752,5	724,8
50 5-Methylhept-1-en	754,0	759,3	735,9	742,7	764,7	745,6	752,8	775,0
51 <i>E</i> -6-Methylhept-3-en	747,8	759,8	746,3	743,3	754,2	756,7	753,4	765,4
52 <i>Z</i> -3,5-Dimethylhex-2-en	751,4	761,1	751,1	753,3	740,0	761,4	763,8	750,4
53 2,5-Dimethylhex-2-ene	750,0	762,0	749,8	750,5	740,0	760,1	760,9	750,4
54 <i>E</i> -3,5-Dimethylhex-2-en	751,0	762,0	751,1	753,3	740,0	761,4	763,8	750,4
55 4-Ethylhex-1-en	755,8	763,5	736,3	743,6	764,7	746,0	753,7	775,0
56 <i>Z</i> -3,4-Dimethylhex-2-en	754,5	764,8	768,5	756,1	740,0	779,8	766,8	750,4
57 <i>Z</i> -2,3-Dimethylhex-3-en	749,8	765,2	767,2	753,3	740,0	778,5	763,8	750,4
58 <i>Z</i> -5-Methylhept-3-en	753,7	766,0	748,2	747,5	754,2	758,7	757,8	765,4
59 <i>Z</i> -3,4,4-Trimethylpent-2-en	758,4	766,2	746,8	742,5	715,4	756,6	752,5	724,8
60 <i>E</i> -2,3-Dimethylhex-3-en	755,8	766,5	767,2	753,3	740,0	778,5	763,8	750,4
61 <i>E</i> -5-Methylhept-3-en	758,7	767,8	748,2	747,5	754,2	758,7	757,8	765,4
62 <i>Z</i> -3-Ethyl-4-methylpent-2-en	755,8	767,8	772,4	764,5	740,0	783,7	775,5	750,4
63 <i>E</i> -3,4-Dimethylhex-2-en	758,9	771,1	769,1	757,5	740,0	780,4	768,2	750,4
64 <i>E</i> -6-Methylhept-2-en	765,6	771,5	748,9	748,9	754,2	759,3	759,3	765,4
65 <i>E</i> -5-Methylhept-2-en	766,5	774,4	750,9	753,2	754,2	761,3	763,7	765,4
66 <i>Z</i> -6-Methylhept-2-en	769,0	776,7	749,5	750,3	754,2	760,0	760,7	765,4
67 <i>E</i> -3-Ethyl-4-methylpent-2-en	767,5	777,8	770,4	760,3	740,0	781,7	771,1	750,4
68 2-Propylpent-1-en	769,0	778,0	762,7	768,7	781,6	773,9	779,9	791,1
69 2,3,4-Trimethylpent-2-en	764,8	779,5	789,6	766,6	725,9	801,8	777,7	735,7
70 2-Methylhept-1-en	774,9	784,3	762,5	768,2	781,6	773,7	779,5	791,1
71 <i>Z</i> -4-Methylhept-3-en	772,7	784,6	779,8	783,9	771,2	791,7	795,8	781,5
72 <i>Z</i> -5-Methylhept-2-en	774,6	784,8	753,8	759,5	754,2	764,2	770,2	765,4
73 3-Ethylhex-3-en	772,0	785,9	780,0	788,3	771,2	791,9	800,4	781,5
74 2-Ethylhex-1-en	777,8	786,3	764,6	772,9	781,6	775,8	784,3	791,1
75 Okt-1-en	780,4	788,3	761,3	766,1	795,9	772,6	777,3	806,1

pokračování tabulky P12

Název	Experimentální		Skvalan vypočtená			PDMS vypočtená		
	<i>RI</i> ,SQ	<i>RI</i> ,PDMS	<i>RI</i> ,HS	<i>RI</i> ,PB	<i>RI</i> ,adme	<i>RI</i> ,HS	<i>RI</i> ,PB	<i>RI</i> ,adme
76 Z-3-Methylhept-3-en	776,4	789,2	779,0	782,2	771,2	791,0	794,0	781,5
77 E-3,4-Dimethylhex-3-en	776,7	790,6	784,1	792,8	757,1	795,9	805,1	766,8
78 E-4-Methylhept-3-en	778,0	791,3	778,7	781,5	771,2	790,6	793,3	781,5
79 3-Ethyl-2-methylpent-2-en	778,0	791,8	798,4	788,9	757,1	811,2	801,0	766,8
80 E-3-Ethylhex-2-en	780,4	792,7	783,3	791,4	771,2	795,2	803,6	781,5
81 Z-3-Ethylhex-2-en	782,2	793,8	783,3	791,4	771,2	795,2	803,6	781,5
82 E-Okt-4-en	782,9	794,7	776,3	776,7	785,4	788,4	788,3	796,5
83 Z-3,4-Dimethylhex-3-en	781,8	795,7	788,2	801,6	757,1	800,0	814,2	766,8
84 Z-3-Methylhept-2-en	786,9	796,7	780,4	785,1	771,2	792,3	797,1	781,5
85 E-3-Methylhept-3-en	782,8	796,9	779,0	782,2	771,2	791,0	794,0	781,5
86 E-Okt-3-en	788,0	797,7	776,6	777,2	785,4	788,6	788,9	796,5
87 Z-Okt-3-en	786,9	797,7	777,2	778,5	785,4	789,2	790,2	796,5
88 Z-Okt-4-en	785,3	798,5	778,0	780,3	785,4	790,0	792,1	796,5
89 2,3-Dimethylhex-2-en	787,4	800,2	783,7	791,8	757,1	795,5	804,0	766,8
90 2-Methylhept-2-en	789,6	800,2	778,3	780,6	771,2	790,3	792,4	781,5
91 E-Okt-2-en	797,4	804,0	777,0	778,1	785,4	789,0	789,8	796,5
92 E-3-Methylhept-2-en	797,2	806,6	779,2	782,6	771,2	791,2	794,5	781,5
93 Z-Okt-2-en	800,4	811,2	778,8	782,0	785,4	790,8	793,8	796,5

* sloučeniny 25 a 27 jsou diastereoismery (označení a b).

6 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] M. Vitha, P.W. Carr: The chemical interpretation and practice of linear solvation energy relationships in Chromatography, *J. Chromatogr. A* 1126 (2006) 143-194
- [2] C. F. Poole, S.K. Poole: Foundations of retention in partition chromatography, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 1530-1550
- [3] R. Kaliszan: QSRR: Quantitative Structure-(Chromatographic) retention relationships, *Chem. Rev.* 107 (2007) 3212-3246
- [4] R. W. Taft, J. L. M. Abboud, M. J. Kamlet, M. H. Abraham: Linear solvation energy relations, *J. Solution. Chem.* 14 (1985) 153-186
- [5] C. F. Poole, S. N. Atapattu, S. K. Poole: Determination of solute descriptors by chromatographic methods, *Anal. Chim. Acta* 652 (2009) Sp. Iss. 32-53
- [6] L. R. Snyder, J. W. Dolan, J. R. Gant: Gradient elution in high-performance liquid chromatography: I. Theoretical basis for reversed-phase systems, *J. Chromatogr.* 165 (1979) 3-30
- [7] J. W. Dolan, J. R. Gant, L. R. Snyder: Gradient elution in high-performance liquid chromatography: II. Practical application to reversed-phase systems, *J. Chromatogr.* 165 (1979) 31-58
- [8] P. J. Schoenmakers, H. A. H. Billiet, L. de Galan: Influence of organic modifiers on the retention behaviour in reversed-phase liquid chromatography and its consequences for gradient elution, *J. Chromatogr.* 185 (1979) 179-195
- [9] C.F. Poole, *The Essence of Chromatography*, Elsevier, Amsterdam (2003) p. 301-305
- [10] K. Valkó, L. R. Snyder, J. L. Glajch: Retention in reversed-phase liquid chromatography as a function of mobile-phase composition, *J. Chromatogr. A* 656 (1993) 501-520
- [11] P. Nikitas, A. Pappa-Louisi: Retention models for isocratic and gradient elution in reversed-phase liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 1737-175
- [12] C.F. Poole, S.K. Poole: Column selectivity from the perspective of the solvation parameter model, *J. Chromatogr. A* 965 (2002) 263-299
- [13] L. C. Tan, P. W. Carr: Extra-thermodynamic relationships in chromatography—study of the relationship between the slopes and intercepts of plots of $\ln k'$ vs. mobile phase composition in reversed-phase chromatography, *J. Chromatogr. A* 656 (1993) 521-535
- [14] M. Markuszewski, R. Kaliszan, M. A. van Straten, H. A. Claessens, Linear and quadratic relationships between retention and organic modifier content in eluent in reversed phase high-performance liquid chromatography: a systematic comparative statistical study, *J. High. Res. Chrom.* 23(12) (2000) 667-676
- [15] J. H. Hildebrand, R. L. Scott: *The Solubility Of Nonelectrolytes*, Dover Publications, New York (1964)
- [16] P. J. Schoenmakers, H. A. H. Billiet, L. De Galan: The solubility parameter as a tool in understanding liquid chromatography, *Chromatographia* 15(3) (1982) 205-214

- [17] P. Jandera, J. Churáček: Gradient elution in liquid chromatography: I. The influence of the composition of the mobile phase on the capacity ratio (retention volume, band width, and resolution) in isocratic elution—theoretical considerations, *J. Chromatogr. A* 91 (1974) 207-221
- [18] B. L. Karger, L. R. Snyder, C. Eon: An expanded solubility parameter treatment for classification and use of chromatographic solvents and adsorbents: Parameters for dispersion, dipole and hydrogen bonding interactions, *J. Chromatogr. A* 125(1) (1976) 71-88
- [19] B. L. Karger, L. R. Snyder, C. Eon: Expanded solubility parameter treatment for classification and use of chromatographic solvents and adsorbents, *Anal. Chem.* 50 (1978) 2126-2136
- [20] R. Tijssen, P. J. Schoenmakers, M. R. Böhmer, L. K. Koopal, H. A. Billiet: Lattice models for the description of partitioning/adsorption and retention in reversed-phase liquid chromatography, including surface and shape effects, *J. Chromatogr. A* 656 (1993) 135-196
- [21] R. Tijssen, H. A. H. Billiet, P. J. Schoenmakers: Use of the solubility parameter for predicting selectivity and retention in chromatography, *J. Chromatogr. A* 122 (1976) 185-203
- [22] M. J. Lazzaroni, D. Bush, C. A. Eckert, T. C. Frank, S. Gupta, J. D. Olson: Revision of MOSCED parameters and extension to solid solubility calculations, *Ind. Eng. Chem. Res.* 44(11) (2005) 4075-4083
- [23] J. R. Torres-Lapasió, M. C. Garcia-Alvarez-Coque, M. Rosés, E. Bosch, Prediction of the retention in reversed-phase liquid chromatography using solute–mobile phase–stationary phase polarity parameters, *J. Chromatogr. A* 955(1) (2002) 19-34
- [24] J. R. Torres-Lapasió, M. C. Garcia-Alvarez-Coque, M. Rosés, E. Bosch, A. M. Zissimos, M. H. Abraham: Analysis of a solute polarity parameter in reversed-phase liquid chromatography on a linear solvation relationship basis, *Anal. Chim. Acta* 515(1) (2004) 209-227
- [25] J. R. Torres-Lapasió, M. J. Ruiz-Ángel, M. C. Garcia-Alvarez-Coque: Comparative study of solvation parameter models accounting the effects of mobile phase composition in reversed-phase liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 1166 (1) (2007) 85-96
- [26] J. M. Herrero-Martínez, P. Izquierdo, J. Sales, M. Rosés, E. Bosch: Application of a polarity parameter model to the separation of fat-soluble vitamins by reversed-phase HPLC, *J. Sep. Sci.* 31(18) (2008) 3170-3181
- [27] E. Bosch, P. Bou, M. Rosés: Linear description of solute retention in reversed-phase liquid chromatography by a new mobile phase polarity parameter, *Anal. Chim. Acta* 299 (1994) 219-229
- [28] A. R. Katritzky, D. C. Fara, H. Yang, K. Tämm, T. Tamm, M. Karelson: Quantitative measures of solvent polarity. *Chemical reviews*, 104(1) (2004) 175-198
- [29] M. Rosés, E. Bosch: Linear solvation energy relationships in reversed-phase liquid chromatography. Prediction of retention from a single solvent and a single solute parameter, *Anal. Chim. Acta* 274(1) (1993) 147-162
- [30] R. Put, Y. V. Heyden: Review on modelling aspects in reversed-phase liquid chromatographic quantitative structure–retention relationships, *Anal. Chim. Acta* 602(2) (2007) 164-172
- [31] K. Héberger: Quantitative structure–(chromatographic) retention relationships *J. Chromatogr. A* 1158 (1) (2007) 273-305

- [32] E. S. Souza, C. A. Kuhnen, B. D. S. Junkes, R. A. Yunes, V. E. F. Heinzen: On a new semi-empirical electrotopological index for QSRR models, *J. Chemometr.* 22(6) (2008) 378-384
- [33] Y. Du, Y. Liang, D. Yun: Data mining for seeking an accurate quantitative relationship between molecular structure and GC retention indices of alkenes by projection pursuit *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 42(6) (2002) 1283-1292
- [34] C. Hansch, A. Leo, *Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology*, Wiley, New York (1979)
- [35] R. Kaliszan, M.A. van Straten, M. Markuszewski, C.A. Cramers, H.A. Claessens: Molecular mechanism of retention in RP-HPLC and classification of stationary phases by using QSRR, *J.Chromatogr. A* 855 (1999) 455-486
- [36] B. Lucic, N. Trinajstic, S. Sild, M. Karelson, A. R. Katritzky, (1999). A new efficient approach for variable selection based on multiregression: Prediction of gas chromatographic retention times and response factors. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 39(3), 610-621.
- [37] A. R. Katritzky, K. Chen, U. Maran, D. A. Carlson: QSPR correlation and predictions of GC retention indexes for methyl-branched hydrocarbons produced by insects, *Anal. Chem.* 72 (2000) 101-109
- [38] A. Beteringhe, A. C. Radutiu, D. C. Culita, A. Mischie, F. Spafiu: Quantitative structure–retention relationship (QSRR) study for predicting gas chromatographic retention times for some stationary phases *QSAR Comb. Sci.* 27(8) (2008) 996-1005
- [39] R. Ghavami, F. Sadeghi: QSRR-based evaluating and predicting of the relative retention time of polychlorinated biphenyl congeners on 18 different high resolution GC columns, *Chromatographia* 70(5-6) (2009) 851-868
- [40] C. Reichardt: Solvatochromic dyes as solvent polarity indicators, *Chem. Rev.* 94(8) (1994) 2319-2358
- [41] M.J. Kamlet, R.W. Taft: The solvatochromic comparison method. I. The. beta.-scale of solvent hydrogen-bond acceptor (HBA) basicities, *J. Am. Chem. Soc.* 98 (1976) 377-383
- [42] R.W. Taft, M.J. Kamlet: The solvatochromic comparison method. 2. The alpha-scale of solvent hydrogen-bond donor (HBD) acidities, *J. Am. Chem. Soc.* 98 (1976) 2886-2894
- [43] M. J. Kamlet, J. L. Abboud, R.W. Taft: The solvatochromic comparison method. 6. The. pi.* scale of solvent polarities, *J. Am. Chem. Soc.* 99 (1977) 6027-6038
- [44] M. J. Kamlet, J. L. M. Abboud, M. H. Abraham, R. W. Taft: Linear solvation energy relationships. 23. A comprehensive collection of the solvatochromic parameters, pi*, alpha, and beta, and some methods for simplifying the generalized solvatochromic equation, *J. Org. Chem.* 48 (1983) 2877-2887
- [45] P. C. Sadek, P. W. Carr, R. M. Doherty, M. J. Kamlet, R. W. Taft, M. H. Abraham: Study of retention processes in reversed-phase high-performance liquid chromatography by the use of the solvatochromic comparison method. *Anal. Chem.* 57(14) (1985) 2971-2978
- [46] M. Rosés, C. Rafols, J. Ortega, E. Bosch: Solute–solvent and solvent–solvent interactions in binary solvent mixtures. Part 1. A comparison of several preferential solvation models for

- describing ET (30) polarity of bipolar hydrogen bond acceptor-cosolvent mixtures, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* (8) (1995) 1607-1615
- [47] W. J. Cheong, P. W. Carr: Kamlet-Taft: π^* polarizability/dipolarity of mixtures of water with various organic solvents, *Anal. Chem.* 60(8)(1988) 820-826
- [48] W. J. Cheong, P. W. Carr: Limitations of all empirical single-parameter solvent strength scales in reversed-phase liquid chromatography, *Anal. Chem.* 61 (1989) 1524-1529
- [49] M. J. Hait, C. L. Liotta, C. A. Eckert, D. L. Bergmann, A. M. Karachewski, A. J. Dallas, D. I. Eikens, J. J. Li, P. W. Carr: Space predictor for infinite dilution activity coefficients, *Ind. Eng. Chem. Res.* 32(11) (1993) 2905-2914
- [50] J. Li, B. Cai: Evaluation of the retention dependence on the physicochemical properties of solutes in reversed-phase liquid chromatographic linear gradient elution based on linear solvation energy relationships, *J. Chromatogr. A* 905 (2001) 35-46
- [51] K. Valko, M. Plass, C. Bevan, D. Reynolds, M.H. Abraham, Relationships between the chromatographic hydrophobicity indices and solute descriptors obtained by using several reversed-phase, diol, nitrile, cyclodextrin and immobilised artificial membrane-bonded high-performance liquid chromatography columns, *J. Chromatogr. A* 797 (1998) 41-55
- [52] C. M. Du, K. Valko, C. Bevan, D. Reynolds, M.H. Abraham: Characterizing the selectivity of stationary phases and organic modifiers in reversed-phase high-performance liquid chromatographic systems by a general solvation equation using gradient elution, *J. Chromatogr. Sci.* 38 (2000) 503-511
- [53] M. H. Abraham, P. L. Grellier, R. A. McGill: Determination of olive oil-gas and hexadecane-gas partition coefficients, and calculation of the corresponding olive oil-water and hexadecane-water partition coefficients, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* (1987) 797-803
- [54] M.H. Abraham: Scales of solute hydrogen-bonding - their construction and application to physicochemical and biochemical processes, *Chem. Soc. Rev.* 22 (1993) 73-83
- [55] M.H. Abraham, G.S. Whiting, R.M. Doherty, W.J. Shuely: Hydrogen-bonding .13. A new method for the characterization of GLC stationary phases - the Laffort data set, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* (1990) 1451-1460
- [56] M.H. Abraham, G.S. Whiting, R.M. Doherty, W.J. Shuely: Hydrogen bonding: XVI. A new solute salvation parameter, p_2H , from gas chromatographic data, *J. Chromatogr.* 587 (1991) 213 - 228
- [57] M. H. Abraham, J. C. McGowan: The use of characteristic volumes to measure cavity terms in reversed phase liquid chromatography, *Chromatographia* 23,4 (1987) 243-246
- [58] M.H. Abraham, A.M. Zissimos, A. Ibrahim: Determination of sets of solute descriptors from chromatographic measurements, *J. Chromatogr. A* 1037 (2004) 29-47
- [59] Q. Li, C. F. Poole, W. Kiridena, W. W. Koziol: Chromatographic methods for the determination of the logL(16) solute descriptor, *Analyst* 125 (2000) 2180-2188
- [60] A. Stenzel, S. Endo, K. U. Goss: Measurements and predictions of hexadecane/air partition coefficients for 387 environmentally relevant compounds, *J. Chromatogr. A* 1220 (2012) 132-142

- [61] A. Nasehzadeh, E. Jamalizadeh, G. A. Mansoori: Prediction of gas-hexadecane partition coefficients (L 16) via the solubility-parameter-based method, *J. Mol. Struct. (Theochem)* 623 (2003) 135–143
- [62] G. Bronner, K. Fenner, K. U. Goss: Hexadecane/air partitioning coefficients of multifunctional compounds: Experimental data and modeling, *Fluid Phase Equilibria* 299(2) (2010) 207–215
- [63] M. H. Abraham, Y. H. Zhao: Determination of solvation descriptors for ionic species: hydrogen bond acidity and basicity, *J. Org. Chem.* 69 (2004) 4677-4685
- [64] P. R. Fields, Y. Sun, A. M. Stalcup: Application of a modified linear solvation energy relationship (LSER) model to retention on a butylimidazolium-based column for high performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography A* 1218(3) (2011) 467-475
- [65] J. A. Platts, D. Butina, A. Hersey: Estimation of Molecular Linear Free Energy Relation Descriptors Using a Group Contribution Approach, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 39 (1999) 835-845
- [66] J. A. Platts, M. H. Abraham, D. Butina, A. Hersey: Estimation of Molecular Linear Free Energy Relationship Descriptors by a Group Contribution Approach. 2. Prediction of Partition Coefficients, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 40 (2000) 71-80
- [67] P. Havelec, J. G. K. Ševčík: Extended additivity model of parameter logL16, *J. Phys. Chem. Ref. Data* 25(6) (1996) 1483-1493
- [68] P. Havelec, J. G. K. Ševčík: Concept of additivity for a non-polar solute-solvent criterion log L16 Non-aromatic compounds, *J. Chromatogr. A* 677 (1994) 319-329
- [69] D. Svozil, J. G. K. Ševčík: Neural Network Prediction of the Solvatochromic Polarity/Polarizability Parameter π_2^H , *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 37 (1997) 338-342
- [70] L. C. Tan, P. W. Carr: Study of retention in reversed-phase liquid chromatography using linear solvation energy relationships .2. The mobile phase, *J. Chromatogr. A* 799 (1998) 1-19
- [71] L. C. Tan, P. W. Carr, M. H. Abraham: Study of retention in reversed-phase liquid chromatography using linear solvation energy relationships .1. The stationary phase, *J. Chromatogr. A* 752 (1996) 1-18
- [72] M. Reta, P. W. Carr, P. C. Sadek, S. C. Rutan: Comparative study of hydrocarbon, fluorocarbon, and aromatic bonded RP-HPLC stationary phases by linear solvation energy relationships, *Anal. Chem.* 71 (1999) 3484-3496
- [73] A. Sandi, M. Nagy, L. Szepeszy: Characterization of reversed-phase columns using the linear free energy relationship III. Effect of the organic modifier and the mobile phase composition, *J. Chromatogr. A* 893 (2000) 215-234
- [74] E. C. Vonk, K. Lewandowska, H. A. Claessens, R. Kaliszan, C. A. Cramers: Quantitative structure-retention relationships in reversed-phase liquid chromatography using several stationary and mobile phases, *J. Sep. Sci.* 26(9-10) (2003) 777-792
- [75] W. Kiridena, S. N. Atapattu, C. F. Poole, W. W. Koziol: System maps for RP-LC on an octadecylsiloxane-bonded silica stationary phase (SunFire C18), *Chromatographia* 68(1-2) (2008) 11-17

- [76] W. Kiridena, C. F. Poole, S. N. Atapattu, J. Qian, W. W. Koziol: Comparison of the Separation Characteristics of the Organic–Inorganic Hybrid Octadecyl Stationary Phases XTerra MS C18 and XBridge C18 and Shield RP18 in RPLC, *Chromatographia* 66 (2007) 453-460
- [77] S. Werlich, J. T. Andersson, J. Fresen: Characterization of some functionalized RP-HPLC phases by the use of linear solvation energy relationships, *Anal. Chem.* 364(1-2) (1999) 3-14
- [78] Y. Chu, C. F. Poole: System maps for retention of neutral organic compounds under isocratic conditions on a reversed-phase monolithic column, *J. Chromatogr. A* 1003(1) (2003) 113-121
- [79] C. F. Poole, Q. Li, W. Kiridena, W. W. Koziol: Selectivity assessment of popular stationary phases for open-tubular column gas chromatography, *J. Chromatogr. A* 912 (2001)107-117
- [80] E. Lazaro, C. Rafols, M. H. Abraham, M. Rosés: Chromatographic estimation of drug disposition properties by means of immobilized artificial membranes (IAM) and C18 columns, *J. Med. Chem.* 49(16) (2006) 4861-4870
- [81] M. H. Abraham, F. Martins: Human skin permeation and partition: General linear free-energy relationship analyses, *J. Pharm. Sci.* 93 (2004) 1508 -1516
- [82] J. Wang, C. Wang, Z. Guo, X. Dong, Y. Xiao, X. Xue, X. Zhang, X. Liang: A novel method for characterization and comparison of reversed-phase column selectivity, *J. Chromatogr. A* 1361(26) (2014) 153-161
- [83] S. K. Poole, C. F. Poole: The orthogonal character of stationary phases for gas chromatography *J. Sep. Sci.* 31 (2008) 1118-1123
- [84] M. H. Abraham, C. F. Poole, S. K. Poole: Classification of stationary phases and other materials by gas chromatography, *J. Chromatogr. A* 842 (1999) 79-114
- [85] M. H. Abraham, D. S. Ballantine, B. K. Callihan: Revised linear solvation energy relationship coefficients for the 77-phase McReynolds data set based on an updated set of solute descriptors *J. Chromatogr. A* 878 (2000) 115-124
- [86] L. Rohrschneider: Characterization of stationary phases by retention data and solvation parameters, *J. Sep. Sci.* 24 (2001) 3-9
- [87] C. F. Poole, N. Lenca: Gas chromatography on wall-coated open-tubular columns with ionic liquid stationary phases, *J. Chromatogr. A* 1357 (2014) 87-109
- [88] S. Studzińska, B. Buszewski: Linear Solvation Energy Relationships in the Determination of Specificity and Selectivity of Stationary Phases, *Chromatographia* 75 (2012) 1235-1246
- [89] D. Sýkora, J. Vozka, E. Tesařová: Chromatographic methods enabling the characterization of stationary phases and retention prediction in high-performance liquid chromatography and supercritical fluid chromatography, *J. Sep. Sci.* 39 (2016) 115–131
- [90] E. Lesellier, C. West: Description and comparison of chromatographic tests and chemometric methods for packed column classification, *J. Chromatogr. A* 1158 (2007) 329-360
- [91] J.H. Zhao, P.W. Carr: Comparison of the retention characteristics of aromatic and aliphatic reversed phases for HPLC using linear solvation energy relationships, *Anal. Chem.* 70 (1998) 3619-3628

- [92] I. W. Kim, H. S. Lee, Y. K. Lee, M. D. Jang, J. H. Park: Selectivity of amino-, cyano-and diol-bonded silica in reversed-phase liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 915 (2001) 35-42
- [93] G. Schuster, W. Lindner: Comparative characterization of hydrophilic interaction liquid chromatography columns by linear solvation energy relationships, *J. Chromatogr. A* 1273 (2013) 73-94
- [94] J. H. Park, M. H. Yoon, Y. K. Ryu, B. E. Kim, J. W. Ryu, M. D. Jan: Characterization of some normal-phase liquid chromatographic stationary phases based on linear solvation energy relationships, *J. Chromatogr. A* 796(2) (1998) 249-258
- [95] J. Li, D. A Whitman: Characterization and selectivity optimization on diol, amino, and cyano normal phase columns based on linear solvation energy relationships, *Anal. Chim. Acta* 368(1) (1998) 141-154
- [96] H. Bui, T. Masquelin, T. Perun, T. Castle, J. Dage, M. S. Kuo: Investigation of retention behavior of drug molecules in supercritical fluid chromatography using linear solvation energy relationships, *J. Chromatogr. A* 1206(2) (2008) 186-195
- [97] N. Ulrich, J. Mühlenberg, H. Retzbach, G. Schüürmann, W. Brack: Linear solvation energy relationships as classifiers in non-target analysis—A gas chromatographic approach, *J. Chromatogr. A* 1264 (2012) 95-103
- [98] J. Gotta, S. Keunchkarian, C. Castells, M. Reta: Predicting retention in reverse-phase liquid chromatography at different mobile phase compositions and temperatures by using the solvation parameter model, *J. Sep. Sci.* 35(20) (2012) 2699-2709
- [99] J. Li, T. Robison: Application of linear solvation energy relationships to guide selection of polar modifiers in normal-phase liquid chromatographic separations, *Anal. Chim. Acta* 395(1) (1999) 85-99
- [100] F. Z. Oumada, M. Roses, E. Bosch, M. H. Abraham: Solute–solvent interactions in normal-phase liquid chromatography: a linear free-energy relationships study, *Anal. Chim. Acta* 382(3) (1999) 301-308
- [101] C. F. Poole, A. D. Gunatilleka, R. Sethuraman: Contributions of theory to method development in solid-phase extraction, *J. Chromatogr. A* 885(1) (2000) 17-39
- [102] S. Endo, S. T. J. Droge, K. U. Goss: Polyparameter Linear Free Energy Models for Polyacrylate Fiber-Water Partition Coefficients to Evaluate the Efficiency of Solid-Phase Microextraction, *Anal. Chem.* 83 (2011) 1394-1400
- [103] P. Přikryl, J. G. K. Ševčík: Characterization of sorption mechanisms of solid-phase microextraction with volatile organic compounds in air samples using a linear solvation energy relationship approach, *J. Chromatogr. A* 1179 (2008) 24-32
- [104] L. Sprunger, A. Proctor, W. E. Acree: Characterization of the sorption of gaseous and organic solutes onto polydimethyl siloxane solid-phase microextraction surfaces using the Abraham model, *J. Chromatogr. A* 1175 (2007) 162-173
- [105] S. K. Poole, C. F. Poole: Quantitative structure–retention (property) relationships in micellar electrokinetic chromatography, *J. Chromatogr. A* 1182(1) (2008) 1-24

- [106] J. Lin, J. Sun, Y. Wang, X. Liu, Y. Sun, H. Xu, Z. He: Characterization of microemulsion liquid chromatography systems by solvation parameter model and comparison with other physicochemical and biological processes, *J. Chromatogr. A* 1164 (2007) 129-137
- [107] M. H. Abraham, H. S. Chadha, R. A. Leitao, R. C. Mitchell, W. J. Lambert, R. Kaliszan, P. Haber: Determination of solute lipophilicity, as log P (octanol) and log P (alkane) using poly (styrene–divinylbenzene) and immobilised artificial membrane stationary phases in reversed-phase high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 766(1) (1997) 35-47
- [108] A. L. Revelli, F. Mutelet, J. N. Jaubert: Prediction of partition coefficients of organic compounds in ionic liquids: use of a linear solvation energy relationship with parameters calculated through a group contribution method, *Ind. Eng. Chem. Res.* 49(8) (2010) 3883-3892
- [109] M. H. Abraham, W. E. Acree, A. J. Leo, D. Hoekman: The partition of compounds from water and from air into wet and dry ketones, *New J. Chem.* 33(3) (2009) 568-573
- [110] L. Sprunger, W. E. Acree, M. H. Abraham: Linear free energy relationship correlation of the distribution of solutes between water and sodium dodecyl sulfate (SDS) micelles and between gas and SDS micelles, *J. Chem. Inf. Model.* 47(5) (2007) 1808-1817
- [111] M. H. Abraham, W. E. Acree: Comparison of solubility of gases and vapours in wet and dry alcohols, especially octan-1-ol, *J. Phys. Org. Chem.* 21(10) (2008) 823-83
- [112] M. H. Abraham, J. A. Platts, A. Hersey, A. J. Leo, R. W. Taft: Correlation and estimation of gas–chloroform and water–chloroform partition coefficients by a linear free energy relationship method, *J. Pharm. Sci.* 88(7) (1999) 670-679
- [113] M. H. Abraham, R. E. Smith, R. Luchtefeld, A. J. Boorem, R. Luo, W. E. Acree: Prediction of solubility of drugs and other compounds in organic solvents, *J. Pharm. Sci.* 99(3) (2010) 1500-1515
- [114] A. Jouyban, S. Soltanpour, S. Soltani, H. K. Chan, W. E. Acree: Solubility prediction of drugs in water-cosolvent mixtures using Abraham solvation parameters, *J. Pharm. Pharm. Sci.* 10 (2007) 263-277
- [115] M. H. Abraham, J. Le: The correlation and prediction of the solubility of compounds in water using an amended solvation energy relationship, *J. Pharm. Sci.*, 88(9) (1999) 868-880
- [116] T. H. Nguyen, K. U. Goss, W.P. Ball: Polyparameter linear free energy relationships for estimating the equilibrium partition of organic compounds between water and the natural organic matter in soils, *Environ. Sci. Technol.* 39 (4) (2005) 913-924
- [117] U. Kipka, D. M. Di Toro: A linear solvation energy relationship model of organic chemical partitioning to particulate organic carbon in soils and sediments, *Environ. Toxicol. Chem.* 30 (9) (2011) 2013-2022
- [118] M. H. Rodríguez, E. Fuguet, C. Ràfols, M. Rosés: Performance of chromatographic systems to model soil–water sorption, *J. Chromatogr. A* 1252 (2012) 136-145
- [119] L. Sprunger, B. H. Blake-Taylor, A. Wairegi, W. E. Acree, M. H. Abraham: Characterization of the retention behavior of organic and pharmaceutical drug molecules on an immobilized artificial membrane column with the Abraham model, *J. Chromatogr. A* 1160(1) (2007) 235-245

- [120] J. Li, J. Sun, S. Cui, Z. He: Quantitative structure-retention relationship studies using immobilized artificial membrane chromatography I: Amended linear solvation energy relationships with the introduction of a molecular electronic factor, *J. Chromatogr. A* 1132(1) (2006) 174-182
- [121] D. M. Cimpean, C. F. Poole, Systematic search for surrogate chromatographic models of biopartitioning processes, *Analyst* 127(6) (2002) 724-729
- [122] M. H. Abraham, A. Ibrahim, Y. Zhao, W. E. Acree: A data base for partition of volatile organic compounds and drugs from blood/plasma/serum to brain, and an LFER analysis of the data, *J. Pharm. Sci.* 95(10) (2006) 2091-2100
- [123] M. H. Abraham, The permeation of neutral molecules, ions, and ionic species through membranes: brain permeation as an example, *J. Pharm. Sci.* 100(5) (2011) 1690-1701
- [124] L. M. Sprunger, J. Gibbs, W. E. Acree, M. H. Abraham, Correlation of Human and Animal Air-to-Blood Partition Coefficients With a Single Linear Free Energy Relationship Model QSAR & Combinatorial Science, 27(9) (2008) 1130-1139
- [125] M. H. Abraham, R. Sánchez-Moreno, J. Gil-Lostes, W. E. Acree, J. E. Cometto-Muñiz, W. S. Cain: The biological and toxicological activity of gases and vapors, *Toxicol. In Vitro* 24(2) (2010) 357-362
- [126] M. H. Abraham, R. Sánchez-Moreno, J. E. Cometto-Muñiz, W. S. Cain, A quantitative structure–activity analysis on the relative sensitivity of the olfactory and the nasal trigeminal chemosensory systems, *Chem. Senses* 32(7) (2007) 711-719
- [127] A. Wang, L.C. Tan, P.W. Carr: Global linear solvation energy relationships for retention prediction in reversed-phase liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 848 (1999) 21-37
- [128] A. Wang, P.W. Carr: Comparative study of the linear solvation energy relationship, linear solvent strength theory, and typical conditions model for retention prediction in reversed-phase liquid chromatography, *J. Chromatogr. A* 965 (2002) 3-23
- [129] G. R. Famini, L. Y. Wilson: Using theoretical descriptors in linear free energy relationships: characterizing several polarity, acid and basicity scales, *J. Phys. Org. Chem.* 12 (1999) 645–653
- [130] G. R. Famini, C. A. Penski, L. Y. Wilson, Using theoretical descriptors in quantitative structure activity relationships: some physicochemical properties, *J. Phys. Org. Chem.* 5 (1992) 395-408
- [131] J. S. Murray, P. Politzer, G. R. Famini: Theoretical alternatives to linear solvation energy relationships, *Journal of Molecular Structure: Theochem* 454(2) (1998) 299-306
- [132] J. G. Huddleston, H. D. Willauer, M. T. Burney, L. J. Tate, A. D. Carruth, R. D. Rogers: Comparison of an Empirical and a Theoretical Linear Solvation Energy Relationship Applied to the Characterization of Solute Distribution in a Poly(ethylene) Glycol-Salt Aqueous Biphasic System, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 44 (2) (2004) 549-558

- [133] N.S. Wilson, M.D. Nelson, J.W. Dolan, L.R. Snyder, R.G. Wolcott, P.W. Carr: Column selectivity in reversed-phase liquid chromatography I. A general quantitative relationship, *J. Chromatogr. A* 961 (2002) 171-193
- [134] L.R. Snyder, J. W. Dolan, P. W. Carr: The hydrophobic-subtraction model of reversed-phase column selectivity, *J. Chromatogr. A* 1060 (2004) 77-116
- [135] W. Fan, Y. Zhang, P.W. Carr, S.C. Rutan, M. Dumarey, A. P. Schellinger, W. Pritts: Application of Snyder–Dolan classification scheme to the selection of “orthogonal” columns for fast screening of illicit drugs and impurity profiling of pharmaceuticals—I. Isocratic elution, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 6587-6599
- [136] A. R. Johnson, C. M. Johnson, D. R. Stoll, M. F. Vitha: Identifying orthogonal and similar reversed phase liquid chromatography stationary phases using the system selectivity cube and the hydrophobic subtraction model, *J. Chromatogr. A* 1249 (2012) 62-82
- [137] T. Baczek, R. Kaliszan, K. Novotná, P. Jandera: Comparative characteristics of HPLC columns based on quantitative structure–retention relationships (QSRR) and hydrophobic-subtraction model, *J. Chromatogr. A* 1075 (2005) 109-115
- [138] D. H. Marchand, L.R. Snyder, J.W. Dolan: Characterization and applications of reversed-phase column selectivity based on the hydrophobic-subtraction model, *J. Chromatogr. A* 1191 (2008) 2-20
- [139] M. Meloun, J. Militký: *Statistická analýza experimentálních dat*, Academia, Praha (2004)
- [140] O. Pytela: *Chemometrie pro organické chemiky*, Univerzita Pardubice, Pardubice (1993)
- [141] J. Ševčík: *Metodologie měření v analytické chemii*, Karolinum, Praha (1999)
- [142] J. Popelka, V. Synek: *Úvod do statistické analýzy dat*, Univerzita J. E. Purkyně, Ústí nad Labem (2009)
- [143] Š. Jirkal: *Diplomová práce*, Přf UK, Praha (2000)
- [144] M. Machovcová: *Diplomová práce*, Přf UK, Praha (2005)
- [145] L. Soják, G. Addová, R. Kubinec: Gas chromatographic–mass spectrometric characterization of all acyclic C5 - C7 alkenes from fluid catalytic cracked gasoline using polydimethylsiloxane and squalane stationary phases, *J. Chromatogr. A* 947(2002) 103-117
- [146] L. Soják, G. Addová, R. Kubinec, A. Kraus, A. Boháč: Capillary gas chromatography–mass spectrometry of all 93 acyclic octenes and their identification in fluid catalytic cracked gasoline, *J. Chromatogr. A* 1025(2) (2004) 237-253
- [147] G. Klopman, S. Wang, D. M. Balthasar: Estimation of Aqueous Solubility of Organic Molecules by the Group Contribution Approach, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 32 (1992) 474-482
- [148] G. Klopman, J. Y. Li, S. Wang, M. Dimayuga: Computer Automated logP Calculations Based on an Extended Group Contribution Approach, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 34 (1994) 752-781

7 PŘÍLOHY

Seznam publikací

Š. Jirkal, M. Machovcová, J. G. K. Ševčík: Application of solvation model to prediction of the solute retention in liquid chromatography over a wide range of mobile-phase compositions, *Acta Chromatogr.* 28(1) (2016) 59-78

Š. Jirkal, J. G. K. Ševčík: Application of two methods of calculation of solvation descriptor L to estimate C5–C7 alkenes retention, *J. Sep. Sci* 38 (2015) 2447–2454

Š. Jirkal, J. G. K. Ševčík: Comparison of two methods of calculation LSER descriptor L on retention data of octenes, příspěvek ve sborníku *6th ISC Modern Analytical Chemistry*, ISBN 978-80-7444-005-2 (2010)

Seznam přednášek

Š. Jirkal: Using of LSER in chromatography, Second joint seminar, Německo, Bayreuth, 12. 04. 2002.

Š. Jirkal: Prediction of retention behaviour of alkenes, Third joint seminar, Česká Republika, Praha, 18. 11. 2002.

Š. Jirkal: Comparison of two methods of calculation LSER descriptor L on retention data of octenes, 6th International Students Conference “Modern Analytical Chemistry”: Česká republika, Praha, 23. - 24. 09. 2010.